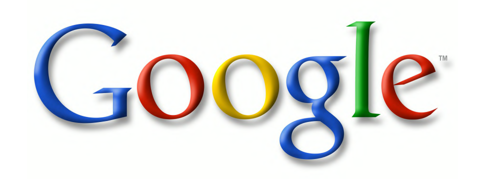


H. DUBIEF

MANUEL

DE

MICROBIOLOGIE

avec 162 figures dans le texte
et 8 planches en couleur hors texte



MANUEL PRATIQUE

DE

MICROBIOLOGIE

MANUEL PRATIQUE

DE

MICROBIOLOGIE

COMPRENANT

LES FERMENTATIONS, LA PHYSIOLOGIE
LA TECHNIQUE HISTOLOGIQUE, LA CULTURE DES BACTÉRIES
ET L'ÉTUDE DES PRINCIPALES MALADIES
D'ORIGINE BACTÉRIENNE

PAR

LE D[R] H. DUBIEF

Ancien interne, Lauréat des hôpitaux de Paris
Lauréat de la Faculté de médecine

PARIS

OCTAVE DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON, 8

—

1888

A MON VÉNÉRÉ MAITRE

M. LE Dr DUJARDIN-BEAUMETZ

Membre de l'Académie de médecine
Membre du conseil d'Hygiène et de Salubrité de la Seine
Médecin de l'hôpital Cochin
Officier de la Légion d'honneur.

PRÉFACE

Il ne sera pas inutile, avant d'aborder l'étude de notre sujet, d'apprendre au lecteur comment, pourquoi ce livre a été composé et dans quel esprit il a été conçu.

Il n'existe pas, en France, un manuel élémentaire de bactériologie : certains traités, traduits des auteurs étrangers, sont diffus ou incomplets; les livres français, dus à la plume de savants maîtres, s'adressent à un public déjà versé dans l'étude difficile des bactéries et ne sont pas des livres élémentaires. L'absence d'un livre de proportions modestes, où les élèves pourraient trouver tous les petits détails de la technique à côté de notions générales sur les bactéries, était donc préjudiciable à la diffusion des notions microbiologiques.

Je ne me serais certes pas senti le courage de combler une pareille lacune si je n'avais été soutenu et encouragé par mon cher maître M. le Dr Dujardin-Beaumetz. Suivant la règle pleine de libéralisme qu'il s'est tracée depuis plusieurs années, ce maître éminent veut bien associer ses élèves au brillant enseignement qui attire autour de lui un nombreux et sympathique auditoire. S'occupant en ce moment de toutes les questions qui touchent à l'hygiène et à la prophylaxie, il a pensé que, dans l'état actuel de la science, l'enseignement de l'hygiène est inséparable de celui de la bactériologie, et il a bien voulu me confier la tâche ardue et difficile d'exposer, dans une série de leçons, les notions de microbiologie, aujourd'hui indispensables au bagage scientifique de tout médecin vraiment instruit ; en même temps, il me témoigna le désir que la substance de ces leçons fût étendue et rassemblée dans un petit traité, destiné à initier les élèves travailleurs à cette étude des microbes à la fois si difficile et si passionnante.

On voit donc que c'est là un livre qui n'a pas la prétention de s'élever à la hauteur d'un grand

traité de bactériologie : il représente seulement la substance de quelques leçons, ordonnée sous forme de manuel. Pour les mêmes raisons, il ne faut pas chercher ici un travail purement personnel; cependant, j'ai pu vérifier par moi-même presque tous les faits que j'avance; autant qu'il m'a été possible, les descriptions ont été faites, ainsi que les planches de l'ouvrage, sur des préparations originales.

Ce manuel est divisé en quatre livres ou parties :

LIVRE PREMIER : *Etude des fermentations.*

LIVRE SECOND : *Histoire naturelle, anatomie et physiologie des bactéries.*

LIVRE TROISIÈME : *Technique histologique, cultures et inoculations des bactéries.*

LIVRE QUATRIÈME : *Etude des principales maladies causées par les bactéries.*

En plaçant en tête de cet ouvrage l'étude des fermentations, je n'ai pas seulement été poussé par l'intérêt historique : il faut bien se pénétrer de cette idée, trop méconnue dans le monde médical, que le peu que nous savons sur la physiologie des bactéries, nous a été appris par l'étude des fermentations. Bien avant Pasteur,

des esprits éminents, éclairés par une clairvoyance véritablement prophétique, avaient compris l'importance de la connaissance des phénomènes de la fermentation pour l'étude des maladies ; c'est ainsi que Robert Boyle écrivait, il y a plus de deux siècles, dans son *Essai sur la partie pathologique de la physique :*

« Qu'on me permette d'exprimer l'opinion que celui qui comprend la fermentation et la nature des ferments, sera probablement plus apte que celui qui les ignore à donner une explication convenable de diverses maladies (les fièvres, par exemple), qu'il n'aurait sans doute jamais bien conçues, sans jeter un coup d'œil dans la doctrine des fermentations. »

Ces paroles sembleraient avoir été écrites hier, et il n'est pas un médecin qui ne consentirait aujourd'hui à les signer. C'est pourquoi, persuadé de l'utilité incontestable de cette étude, j'ai, contrairement à l'exemple qui nous est fourni par nos traités classiques, donné une place aussi large que possible aux fermentations qui sont, pour moi, une introduction nécessaire à l'étude de la bactériologie.

Je me suis efforcé de donner à la partie technique (histologie et cultures) tout le développement compatible avec le format de ce livre ; il n'est pas de détail négligeable pour un commençant qui risque, faute d'un guide, de perdre, sans profit, tout le fruit d'un travail assidu.

Je ne puis terminer ces quelques lignes d'avertissement, sans remercier ici ceux qui m'ont aidé dans ma tâche. Je dois le dire hautement, c'est grâce à l'inépuisable bonté de M. le Dr Dujardin-Beaumetz que je dois d'avoir pu mener à bien ce petit manuel ; ce bon maître n'a rien négligé pour que j'aie entre les mains tous les instruments de travail ; grâce à sa munificence, j'ai eu à ma disposition une installation bactériologique des plus complètes. Aussi, j'espère qu'il me pardonnera de tromper sa modestie en plaçant son nom en tête de cet ouvrage, comme un bien faible témoignage de ma reconnaissance.

Je tiens à rendre ici un hommage mérité à ma chère sœur, collaborateur modeste, dont l'infatigable dévouement et l'amitié éclairée n'ont cessé de me prêter le plus intelligent concours.

Je veux également remercier mes bons amis

Hippolyte et René Peyrol, ainsi que M. I. Bonheur, qui ont bien voulu me prêter leur remarquable talent d'artistes, pour m'aider dans la confection des dessins et des planches de cet ouvrage.

Enfin, je veux adresser tous mes remercîments à mon éditeur, M. Doin, pour l'empressement et le soin qu'il a mis dans la confection de la partie matérielle du livre.

Dr H. DUBIEF.

MANUEL PRATIQUE
DE
MICROBIOLOGIE

LIVRE PREMIER

LES FERMENTATIONS

CHAPITRE PREMIER

LA FERMENTATION EN GÉNÉRAL

Depuis les temps les plus reculés, l'homme connaissait la fabrication du vin par l'écrasement du raisin ; depuis un temps immémorial, on avait appris à fabriquer la bière en mettant dans du moût d'orge germée le résidu d'une opération antérieure : le phénomène d'ébullition qui se manifeste dans ces opérations a bien évidemment donné naissance au mot qui le désigne, et *fermentation* dérive sûrement de *fervere*, bouillir. Le phénomène brut étant bien observé, sa nature était inconnue, et, plus tard, on prit l'habitude

d'étendre le terme de fermentation à beaucoup d'autres phénomènes chimiques dans lesquels on voit certains corps se modifier, disparaître sous l'influence d'une cause inconnue et ne pouvant être attribuée aux agents physiques et chimiques habituellement usités.

De toute antiquité on connaissait un certain nombre de liquides fermentés, le vin, la bière, l'hydromel; à l'origine de toutes les grandes civilisations on trouve une divinité symbolisant ces boissons fermentées, ce sont, par exemple : Osiris en Egypte, Bacchus chez les Grecs, Noé dans la légende israélite. Mais, si l'existence et l'utilité de la fermentation n'étaient ignorées de personne, il était loin d'en être ainsi pour ce qui regarde sa cause et sa nature.

Les alchimistes confondaient, sous le nom générique de « fermentation », une foule de réactions chimiques les plus diverses, mais principalement celles qui s'accompagnaient d'effervescence, par exemple l'action des acides sur la craie; Van Helmont cependant distingua la formation d'un gaz spécial pendant la fermentation du raisin.

C'est Lémery qui cherche, le premier, à débrouiller toute cette confusion : il sépare l'effervescence des acides avec les alcalis, de la fermentation qui arrive dans le moût ou dans le pain en train de lever.

Il faut arriver à l'immortel Lavoisier pour voir la science enfin dotée d'une explication expérimentale de la fermentation.

La balance à la main, cet homme de génie montre que la fermentation alcoolique n'est autre que le dé-

doublement du sucre en alcool et en acide carbonique; par d'habiles analyses, il cherche à établir le lien numérique qui réunit le sucre d'une part et les produits de son dédoublement d'autre part. Cependant Lavoisier, tout en constatant la nature des réactions, n'en avait pas connu la cause; et c'est seulement vers l'année 1860 qu'on sait d'une façon certaine que la série des phénomènes de décomposition et de fermentation est liée d'une manière immédiate à la vie et à la végétation d'organismes inférieurs, champignons ou bactéries.

C'est à M. Pasteur qu'appartient tout entière la gloire d'avoir montré la réalité de cette théorie *vitaliste* des fermentations.

Par une série d'expériences qui resteront des modèles de rigueur scientifique, l'illustre expérimentateur renversa les idées de ses contradicteurs, et réussit à fixer définitivement la nature des fermentations. Cette théorie vitaliste avait déjà été entrevue pour la fermentation alcoolique par Cagniard de Latour en 1828 et par Schwann en 1837, mais, quelque soit leur mérite, ils n'avaient pas su tirer de leurs observations des déductions d'une portée générale, ni en dévoiler le sens véritable.

Après avoir ainsi rapidement passé en revue les phases par lesquelles a passé l'idée de fermentation, il importe de bien fixer ce que, dans l'état actuel de nos connaissances, on doit désigner par ce nom.

Le mot de *fermentation* doit, selon nous, désigner une série de phénomènes chimiques, se développant sous l'influence de l'activité d'un organisme vivant;

sans cellule vivante, pas de fermentation à proprement parler.

Certaines réactions chimiques, la lumière (Duclaux), peuvent transformer le sucre en alcool et en acide carbonique; ce n'est pas là une fermentation, il faut qu'il s'y ajoute un autre facteur, la levûre vivante. Mais, pour qu'on donne à cet acte vital le nom spécial de fermentation, diffère-t-il donc des phénomènes qui se passent dans d'autres organismes ? En aucune façon, et les fermentations ne sont que des cas particuliers des réactions chimiques qui se passent dans toutes les cellules vivantes ; et, si ces phénomènes ont été classés à part, c'est que pendant longtemps leur véritable cause était ignorée. Voici un fait, qui montre bien que la vie des levûres et des ferments en général ne diffère en rien de la vie de toute cellule vivante :

Dans un vase à large ouverture, où l'accès de l'air se fait facilement, placez un liquide sucré et semez-y quelques grains de levûre; dans un vase plein de terre, plantez une betterave munie de ses feuilles. La levûre va proliférer, se multiplier en nombre infini ; la betterave va émettre de nouvelles feuilles, une hampe florifère, des fruits, des graines. La végétation de la levûre s'est faite aux dépens du sucre du liquide, la végétation de la betterave aux dépens du sucre contenu dans son énorme racine; il a disparu dans les deux cas sous forme d'eau et d'acide carbonique.

Modifions l'expérience : plaçons la levûre de telle sorte que l'accès de l'oxygène soit supprimé, mettons

la betterave dans l'acide carbonique, le phénomène change de face. Dans les deux cas, la végétation s'arrête bientôt ; mais nous voyons apparaître, soit dans le liquide, soit dans la racine, l'*alcool;* et, en somme, il n'y a aucune différence d'action entre la cellule végétale de la levûre et la cellule végétale de la betterave.

Voici encore une autre expérience due à M. Pasteur : cet habile expérimentateur prit 48 prunes de Monsieur; 24 furent mises sous une cloche où pouvait, en grande abondance, arriver de l'air pur, les 24 autres furent placées dans une cloche analogue, mais contenant de l'acide carbonique. Au bout de quelques jours, on ouvrit les deux cloches : les prunes qui avaient séjourné dans l'air s'étaient légèrement ramollies, la pulpe en était devenue succulente, gorgée d'un délicieux jus sucré. Celles, au contraire, qui avaient été maintenues dans l'acide carbonique étaient restées dures, leur goût sucré avait presque disparu et était remplacé par un goût âcre et peu agréable ; elles contenaient de l'alcool en quantité assez notable, puisque M. Pasteur put, de ces 24 prunes, retirer 6 gr. 5 de ce liquide, c'est-à-dire plus de 1 p. 100 du poids total des prunes. Ici encore, les cellules des deux lots de prunes avaient bien les mêmes propriétés, mais il avait suffi de les faire vivre dans un milieu différent pour leur faire produire des substances totalement dissemblables.

Mais, s'il en est ainsi, l'histoire des fermentations renfermerait toute la chimie biologique, et son étude comporterait l'ensemble de toutes les réactions

accomplies dans les êtres vivants. Nous ne donnerons pas une pareille extension à notre sujet et nous restreindrons le mot de fermentation à l'étude des réactions chimiques produites par des végétaux inférieurs unicellulaires ; cette étude d'ailleurs, ainsi qu'on l'a fait remarquer, pourrait servir d'une admirable introduction à la chimie des êtres vivants et à la physiologie générale.

A chaque fermentation correspond un organisme spécial : remplaçons la levûre de bière par une cellule de levûre lactique, le sucre disparaît, mais, au lieu d'alcool et d'acide carbonique, nous trouvons de l'acide lactique ; mettez-y le bacille butyrique, on voit le sucre se transformer partiellement en acide butyrique. Chaque espèce de ferment possède donc des propriétés qui la rendent apte à produire des réactions chimiques diverses et spécifiques; mais toutes ces réactions ne se font pas sous l'influence d'une force spéciale qui leur est propre, et chaque espèce obéit aux lois générales de la chimie biologique. La question de l'origine des ferments étant liée à celle de la génération spontanée, nous renvoyons le lecteur à cet article qui sera traité au .ivre II.

CHAPITRE II

FERMENTATION ALCOOLIQUE. — LES LEVURES

Historique. — C'est Leuwenhoek, qui, le premier, en 1680, examinant la levûre au microscope vit manifestement qu'elle est composée d'une multitude de petits globules, de forme variant entre une sphère irrégulière et un ovoïde. Cependant, malgré l'importance de cette découverte, il n'en tira aucune conclusion physiologique, et ne reconnut pas dans la levûre la présence d'êtres organisés.

Fabroni, en 1787, s'exprime ainsi : « La matière qui décompose le sucre est une substance végéto-animale ; elle siège dans des utricules particuliers, dans le raisin comme dans le blé. En écrasant le raisin, on mêle cette matière glutineuse avec le sucre ; dès que les deux matières sont en contact, l'effervescence et la fermentation commencent. »

D'après Thénard, si l'on abandonne à la fermentation spontanée un jus sucré quelconque, il se forme après l'opération un dépôt dans le fond du vase, dépôt qui, morphologiquement, ne peut être distingué de la levûre de bière et, comme elle, possède

la propriété de faire fermenter les dissolutions de sucre dans l'eau; Thénard pensait que la levûre, donnant beaucoup d'ammoniaque à la distillation, était d'origine animale, mais il a méconnu sa nature d'être vivant.

Gay-Lussac démontre que, tant qu'on soustrait à l'influence de l'air le jus sucré du raisin, on ne voit pas apparaître la fermentation. Il fait jouer le principal rôle à l'oxygène, mais uniquement pour provoquer e commencement du phénomène, admettant qu'une fois la fermentation en train, elle pouvait se continuer sans l'intervention de ce gaz.

En 1828, Colin démontre que diverses substances azotées, déjà altérées, pouvaient déterminer la fermentation alcoolique sans avoir rien de commun avec la levûre.

La question traitée uniquement au point de vue chimique était encore loin d'être résolue lorsque Cagniard de Latour reprit les observations microscopiques laissées de côté depuis Leuwenhoek. Jusqu'à lui, la levûre était considérée comme un précipité, principe immédiat dégagé des sucres en fermentation.

Il démontra que la levûre est un être vivant pouvant se reproduire par bourgeonnement et appartenant probablement au règne végétal, et il avança l'idée que c'est probablement aux phénomènes végétatifs de cette cellule vivante qu'est dû le dégagement d'acide carbonique et la production d'alcool. Les discussions commencèrent alors pour lui assigner une place botanique; nous exposerons plus loin ces con-

troverses (page 25). Malgré toute l'importance et l'incontestable valeur des travaux de Cagniard de Latour, ses idées ne furent pas acceptées, combattues qu'elles furent par Liebig, dont les idées étaient généralement adoptées. Cet éminent chimiste n'admettait pas, même après les expériences de Pasteur, que la fermentation alcoolique fût le résultat de la vie des globules de la levûre ; d'après lui, la levûre est en putréfaction et, comme telle, en état de mouvement moléculaire perpétuel : si à ce moment on la met en contact avec un corps instable, elle lui communique un mouvement analogue et, une fois cette première impulsion reçue, les éléments du corps se séparent d'eux-mêmes, tendant à se dédoubler en produits de plus en plus simples.

Cependant, les admirables travaux de Pasteur l'avaient généralement emporté sur les idées de Liebig, et la théorie physiologique triomphait de plus en plus, malgré l'opposition de Berzélius, qui traitait l'organisation de la levûre de rêverie poético-scientifique et de Mitscherlich, qui ne voyait dans la fermentation qu'une action de contact. Liebig lui-même, tout en défendant énergiquement les idées qui lui étaient chères, avoua que la théorie physiologique de Pasteur n'est pas opposée à la théorie mécanique dont il se faisait l'apôtre.

Actuellement, le rôle de la levûre est universellement adopté, et la théorie physiologique a triomphé, grâce surtout aux recherches de Pasteur.

Morphologie de la levûre. — Nous prendrons

comme type de notre description la levûre de bière, qui est la plus connue, et l'une des plus faciles à se procurer à l'état de pureté ; c'est elle surtout qui a servi de pivot aux nombreux et remarquables travaux sur les fermentations que nous avons essayé de de résumer plus haut.

Pour se procurer de la levûre de bière, il suffit de prendre quelques grammes du liquide composant la bière en train de fermenter et connu sous le nom de *moût de bière*, quel que soit d'ailleurs le procédé employé ; on filtre ce liquide, soit avec du papier, soit sur un morceau de plâtre fin ; il reste sur le filtre une substance pâteuse, blanchâtre, qui est la levûre. Transportons un minime fragment de cette pâte délayée dans un peu d'eau sous le microscope, et voyons sous quel aspect elle se présente ; il faut se servir, pour faire cet examen avec fruit, d'un grossissement de 350 à 400 diamètres :

Si l'on examine la levûre au repos, c'est-à-dire séparée de tout liquide sucré nutritif, elle se présente sous l'aspect de globules de forme généralement ronde ou plutôt ovale, ayant de 8 à 9 millièmes de millimètre dans leur plus grand diamètre ; ils sont ordinairement isolés, mais quelquefois réunis deux à deux. Le contour de cette levûre au repos n'est pas tout à fait régulier, et le bord légèrement sinueux montre que, sous l'influence de cette sorte de sommeil vital, la levûre s'est comme ratatinée sur elle-même, n'attendant, pour se développer de nouveau, qu'un milieu convenable à son existence (fig. 1).

Développement de la levûre. — Pour assister au développement de la levûre et étudier cet organisme à l'état vivant, pendant qu'il bourgeonne, il faut se

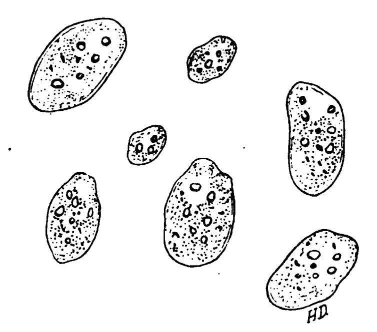


FIG. 1. — Saccharomyces cerevisiæ au repos avant le bourgeonnement. — 800 diamètres.

servir d'appareils appropriés, susceptibles de se fixer à demeure sur la platine du microscope, et permettant l'examen de la même culture à chaque instant, pour ne pas perdre une seule des phases du phénomène. L'appareil qui remplit le mieux ces conditions est la petite chambre humide de Ranvier (fig. 2) ; elle

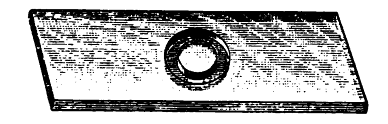


FIG. 2. — Chambre humide de Ranvier.

se compose d'une petite lame de glace d'environ 3 ou 4 millimètres d'épaisseur, ayant les dimensions ordinaires d'un porte-objet, dépolie par sa face supérieure ;

en son milieu est creusée une profonde rainure circulaire ; le petit cylindre de verre qui résulte de cette rainure est usé légèrement, de sorte que sa face supérieure se trouve à environ 1 ou 2 dixièmes de millimètre au-dessous de la surface de la glace porte-objet ; sa superficie est bien polie pour permettre une transparence parfaite.

Veut-on examiner un liquide avec cet appareil, on en place une petite goutte au centre, puis on applique une lamelle couvre-objet après avoir eu soin d'en-

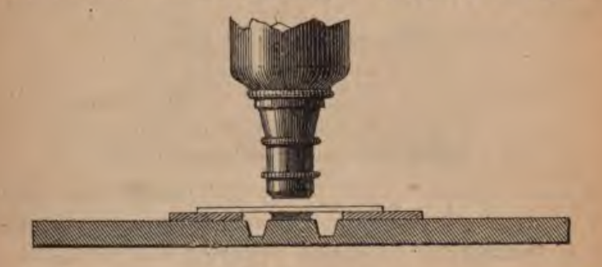


FIG. 3. — Coupe de la chambre humide disposée pour l'examen microscopique.

duire très légèrement de vaseline le pourtour de la rainure, pour empêcher le glissement de la lamelle et l'évaporation du liquide (fig. 3). On pourrait également se servir d'une simple lame creusée, il faudrait alors prendre la précaution de déposer la goutte de liquide à observer, non plus sur la lame porte-objet, mais sur le couvre-objet ; de plus, la goutte devra être toute petite, sans quoi on ne pourrait l'examiner dans toute son épaisseur ; le procédé de la lame creusée est d'ailleurs bien inférieur à celui de la chambre humide

de Ranvier. Celle-ci a été modifiée (fig. 4) pour pouvoir pratiquer ces examens dans différents milieux gazeux ; nous verrons plus loin tout le profit qu'on peut retirer de cette sorte d'étude.

Revenons à notre levûre : pour l'étudier vivante, on procède ainsi qu'il suit : on place, au centre de la chambre humide, une petite goutte d'un liquide nutritif (solution de glucose ou de sucre candi à 10 p. 100, ou liquide de Pasteur, dont on trouvera plus loin la composition), puis, avec une aiguille flambée, on y



FIG. 4. — Chambre humide à circulation de gaz (Nachet).

dépose une toute petite parcelle de levûre au repos. On applique de suite le couvre-objet et la préparation est portée sur la platine du microscope. On voit alors la levûre décrite plus haut, c'est-à-dire formée de globules isolés, de forme plus ou moins régulièrement ovoïde, possédant un double contour, et contenant dans son intérieur une certaine quantité de granulations. On fixe bien solidement la préparation avec les petits valets afin d'être sûr d'observer toujours le même point, et on porte le microscope dans

une étuve à la température de 20° centigrades. De temps à autre, tous les quarts d'heure par exemple, on examine ce qui se passe, et l'on assiste ainsi, sans perdre aucun détail, à toute la série des phases du développement de la levûre.

Au bout d'un temps très court d'exposition à cette température, on voit naître, en un point du globule



FIG. 5. — Saccharomyces cerevisiæ pendant le bourgeonnement. — 800 diamètres.

de levûre, un renflement vésiculeux (fig. 5); le plus souvent, ce bourgeon est solitaire, mais quelquefois il est double; les globules secondaires sont alors disposés soit à chaque extrémité, soit deux à la même. Ces renflements vont en s'accroissant rapidement, et ne tardent pas à atteindre le volume de la cellule primitive. Au fur et à mesure de leur accroissement, on voit apparaître, dans l'intérieur de la cellule-mère,

une vacuole, quelquefois deux, dont une grosse et une petite; ces vacuoles remplacent la partie du protoplasma qui a servi à élaborer la cellule-fille. Ces bourgeons prennent généralement naissance sur les parties les plus larges et plus rarement tout à fait à l'extrémité.

Une fois que la nouvelle cellule a atteint le volume du globule primitif, elle s'étrangle à la base, et, une fois l'étranglement produit, les nouvelles cellules se séparent de la cellule-mère. Si les conditions sont favorables, la même cellule peut produire plusieurs générations, mais peu à peu elle perd tout son protoplasma, qui finit par se réunir en granulations nageant au milieu du suc cellulaire des vacuoles qui ont envahi tout le globule. La cellule cesse alors de se reproduire et même de vivre; la membrane se rompt, et le contenu granuleux se répand dans le liquide ambiant.

Cette fructification par bourgeonnement se fait très rapidement, surtout si l'on se sert d'une chambre humide permettant un renouvellement de l'atmosphère gazeuse, et l'accès facile de l'oxygène; M. Pasteur a vu une fois que deux globules de levûre, dans ces conditions, en avaient fourni huit en deux heures de temps. Une fois le milieu nutritif épuisé, la végétation s'arrête, et la levûre reprend son aspect primitif.

Production des spores dans la levûre. — Si le bourgeonnement est le procédé de multiplication habituel du *saccharomyces cerevisiæ*, il n'est pas

le seul ; ce champignon peut dans certaines conditions produire des spores ; ce mode de fructification a été découvert par Rees (*Botanische Zeitung*, décembre 1869). Pour assister à cette évolution spéciale du globule de levûre, il importe de le priver brusquement de toute nourriture, surtout sucrée, et de le maintenir au contact d'un milieu saturé d'humidité.

Rees employait le procédé suivant : après avoir plusieurs fois lavé de la levûre de bière avec de l'eau distillée, il décantait la plus grande partie, en éloignant journellement les petites portions d'eau qui s'en séparaient. Dans les cas favorables, on obtient, au bout de quinze jours environ, une très riche formation de spores ; mais souvent l'expérience échoue par suite de la putréfaction de la levûre. M. Engel propose dans sa thèse le procédé suivant pour déterminer la fructification de la levûre :

On gâche du plâtre à mouler fin, et on le coule sur une surface polie telle qu'un verre à vitre ou une plaque de marbre, de façon à confectionner un bloc dont une des faces soit bien lisse ; la forme du bloc de plâtre importe peu, il faut seulement que son volume soit calculé de telle sorte qu'il reste, entre lui et la paroi du vase où il sera placé, un espace circulaire de deux centimètres au moins de largeur.

On prend de la levûre très fraiche, on décante le plus possible du liquide fermentescible qui surnage, et on délaye la levûre dans de l'eau distillée, de façon à obtenir une bouillie très fluide ; on verse quelques gouttes de cette bouillie sur la surface polie du plâtre,

en inclinant le bloc en tous sens, pour répartir uniformément le liquide. Cette opération doit se faire rapidement, car le plâtre absorbant très vite l'eau, la bouillie deviendrait trop épaisse, ne se répandrait pas avec assez d'uniformité, et la couche de ferment resterait trop forte en certains points. On dépose alors le bloc dans le vase, la face recouverte de levûre tournée en haut, et l'on verse, au moyen d'un entonnoir, de l'eau distillée entre les parois du vase et le bloc de plâtre, jusqu'à ce que le niveau du li-

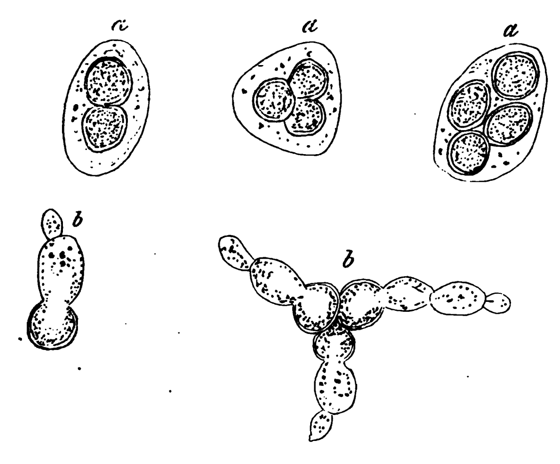


FIG. 6. — Sporulation de la levûre.

a. Formation des spores. — *b*. Germination des spores.

quide arrive à environ un centimètre au-dessous de la face supérieure du bloc. On recouvre le vase d'une plaque de verre pour empêcher, autant que possible,

le contact des poussières et des spores atmosphériques.

Les choses étant ainsi disposées, la végétation habituelle de la levûre s'arrête brusquement, et l'on voit rapidement de profonds changements s'opérer dans le protoplasma de ses cellules, dont les plus vieilles commencent par mourir. Dans celles qui résistent, on voit le protoplasma se répartir uniformément dans tout le globule. Au bout de six à dix heures, on voit apparaître, au milieu de ce protoplasma, deux à quatre îlots brillants autour desquels se rassemblent de fines granulations. Ces ilots denses se différencient de plus en plus (fig. 6) en devenant exactement sphériques. Douze à vingt-quatre heures plus tard, chacune de ces sphères se revêt d'une membrane, fine d'abord, mais qui s'épaissit peu à peu et laisse voir à un grossissement de 600 diamètres un double contour. La spore est alors mûre, et il suffit de semer les thèques dans un liquide nutritif approprié pour voir apparaître le bourgeonnement habituel de la levûre.

Noyau de la levûre. — Lorsqu'on examine les cellules de la levûre à l'état naturel, sans préparation ni coloration préalables, on ne peut y distinguer de noyau; cependant il en existe un, mais difficile à voir. Pour le mettre en évidence, on se sert du procédé suivant : on prend de la levûre fraîche, on la lave très soigneusement plusieurs fois à l'eau distillée par décantation, puis on la recouvre d'un grand excès de solution concentrée d'acide picrique ; on la

laisse en contact pendant vingt-quatre heures. Il faut ensuite, pour colorer les cellules, les priver de toute trace d'acide ; pour cela, on les lave plusieurs fois dans de l'eau qu'on a laissé longtemps bouillir, pour en chasser tout l'acide carbonique. On laisse la levûre pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures dans cette eau, et c'est alors seulement qu'elle peut être soumise à l'action de la matière colorante que l'on prépare de la façon suivante :

On jette quelques cristaux d'hématoxyline dans un peu d'eau distillée, disposée dans un verre de montre, et on fait passer à la surface un courant d'air qui a barboté dans l'ammoniaque liquide ordinaire. Les cristaux d'hématoxyline se dissolvent et le liquide prend une belle coloration violette. On étend très fortement la solution d'eau distillée. On place quelques gouttes du réactif colorant sur une lame porte-objet, que l'on porte dans une chambre humide après y avoir déposé quelques parcelles de levûre bien lavée; il faut environ deux heures pour le parachèvement convenable de la coloration : l'essai du degré de coloration se fait d'ailleurs aisément sous le microscope. Une fois l'intensité voulue acquise (il faut dépasser un peu le ton désiré), on lave sur la lame même, après avoir placé un couvre-objet, au moyen d'eau distillée dont on établit un courant par le moyen de petits morceaux de papier buvard ; puis on remplace l'eau par de la glycérine de plus en plus concentrée; on ne doit pas commencer par de la glycérine pure, qui absorberait de suite l'eau des cellules de levûre, et les ferait se ratatiner. Il est essen-

tiel que la glycérine soit bien neutre, sans quoi, à la longue, la préparation se décolorerait. A la suite de ces traitements, on voit dans chaque cellule, vers le centre, un petit noyau arrondi de couleur sombre.

Variétés de la levûre alcoolique. — Nous avons pris comme type de notre étude le *saccharomyces cerevisiæ*, véritable levûre de bière des brasseurs; mais cet organisme n'est pas le seul qui puisse provoquer la fermentation alcoolique du sucre. Le nombre de ces levûres est assez grand, et nous nous contenterons d'en donner ici une description très sommaire, car elles ne diffèrent du saccharomyces cerevisiæ par aucun élément essentiel.

Le *saccharomyces minor* (fig. 7) est décrit par Engel qui l'a retiré du levain de farine. Pour l'extraire, on

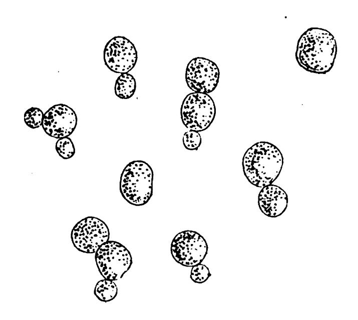


FIG. 7. — Saccharomyces minor.

procède comme pour séparer l'amidon du gluten, c'est-à-dire par malaxation dans un courant d'eau.

On répète l'opération un grand nombre de fois, et on finit par avoir un magma formé en grande partie de globules de cette levûre mélangés à de l'amidon. Les globules de cette levûre sont beaucoup plus petits que ceux de la levûre de bière ; ensemencés dans le liquide de Pasteur, ils ne provoquent qu'une fermentation beaucoup plus lente, tout en bourgeonnant par le même procédé. Elle peut également aboutir à la formation des spores, en employant le même procédé que celui indiqué plus haut à propos de la levûre de bière.

Le *saccharomyces ellipsoïdeus* (fig. 8) de Rees est, d'après Pasteur, le ferment alcoolique ordinaire

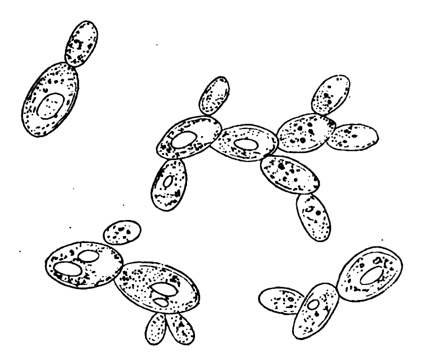


FIG. 8. — Saccharomyces ellipsoïdeus.

du vin. La sporulation et le bourgeonnement sont analogues à ceux de la levûre de bière.

Le *saccharomyces Pastorianus* (Rees) (fig. 9) est une variété de ferment alcoolique observé par Pas-

teur; les cellules sont piriformes, allongées en mas-

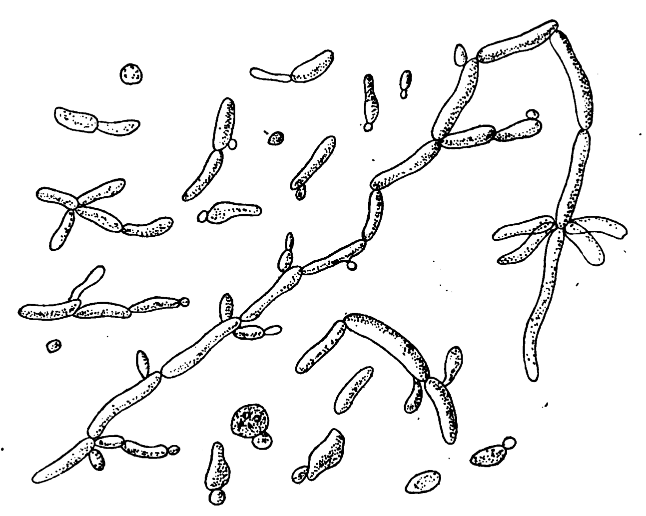


FIG. 9. — Saccharomyces Pastorianus (d'après Pasteur).

sues, elles atteignent de 18 à 20 millièmes de millimètre de longueur sur 8 à 10 de large.

FIG. 10. — Saccharomyces exiguus.

Le *saccharomyces exiguus* (Rees) (fig. 10) n'a que 3 millièmes de millimètre de longueur sur 2 de largeur.

Le *saccharomyces conglomeratus* (Rees) (fig. 11), qu'on rencontre assez rarement, se trouve dans les moûts de raisin vers la

fin de la fermentation; il présente une forme particulière de masses boursoufflées qui se produisent de la façon suivante : lorsque la première cellule-

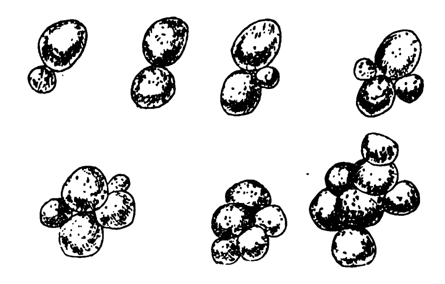


FIG. 11. — Saccharomyces conglomeratus.

fille en bourgeonnant a atteint le volume de la cellule-mère, il naît un troisième globule dans l'aisselle des deux premiers, ainsi que d'autres en

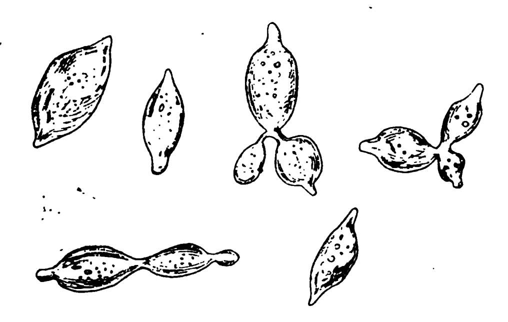


FIG. 12. — Carpozyma apiculatum.

différents points de leur surface; il ne se forme pas ainsi de chaînettes, mais des sortes d'amoncellements.

Le *ferment apiculé* (fig. 12) (carpozyma), d'après Engel, n'est pas un saccharomyces, c'est le ferment alcoolique le plus répandu : on le trouve sur tous les fruits ; les globules ont la forme générale d'un citron, à chaque extrémité se trouve une petite saillie ou apicule. Le bourgeonnement se fait toujours au niveau de ces apicules.

Le *saccharomyces mycoderma* (fig. 13) doit être,

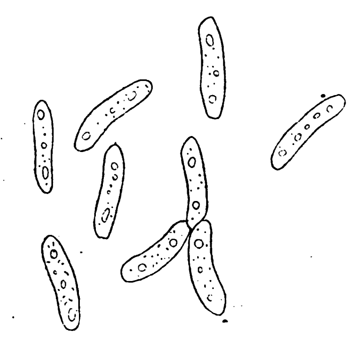


FIG. 13. — Saccharomyces mycoderma ou mycoderma vini. Maladie des vins plats. — Fleurs du vin.

d'après Pasteur, rangé également dans la classe des ferments alcooliques.

Ces diverses variétés de levûres se trouvent naturellement à la surface du péricarpe des fruits, attendant que la chute du fruit ou son écrasement accidentel les mette en contact avec le liquide sucré contenu dans l'intérieur. Une fois ce contact opéré, le bourgeonnement de la levûre et la fermentation commencent immédiatement.

Place botanique des levûres. — A quelle place doit-on mettre les levûres dans l'échelle botanique? Au début, on ne s'entendit pas sur ce classement. Turpin plaçait les levûres dans le genre Torula, assimilant les globules à des spores, sans tenir compte de ce fait que les Torulacées ont un mycélium qui manque aux levûres.

On renonça à cette idée après la découverte des véritables spores, et Meyen en fit un champignon d'un genre nouveau qu'il appela du nom de Saccharomyces. Cette opinion fut adoptée par Rees, Engel, etc.

Kützing en fit des algues qu'il rangea dans un genre à part, le genre *crypto coccus*. L'opinion actuelle est formulée par Engel dans sa thèse de la faculté des sciences (1872) : champignons thécaphores, sans véritable mycélium, dont les organes végétatifs sont des cellules, nées le plus souvent par bourgeonnement de cellules semblables, et qui, se détachant tôt ou tard de la cellule-mère, se multiplient de la même façon. Une partie des cellules ainsi formées se transforme (dans un autre milieu) en thèques sporifères nues, spores uni-cellulaires au nombre de 1 à 4 dans chaque thèque. La germination des spores reproduit directement des cellules végétatives analogues à celles qui sont nées par bourgeonnement.

Composition immédiate de la levûre. — D'après Payen, la levûre serait ainsi composée :

Matière azotée	62,73
Cellulose.	22,37
Graisse.	2,10
Matière minérale	5,80

D'après Pasteur, la quantité de cellulose serait plus faible, environ 18 p. 100.

Composition élémentaire, d'après Schlossberger :

	1re Levûre sup.	2e Levûre inf.
Carbone	49,9	48,0
Hydrogène.	6,6	6,5
Azote	12,1	9,8
Oxygène.	31,4	35,7
Cendres	2,5	3,5

D'après Mitscherlich, la proportion des cendres serait bien plus considérable et égale dans les deux evûres 7,5 p. 100.

Composition des cendres, d'après Mitscherlich.

	Levûre sup.	Levûre inf.
Acide phosphorique	41,8	39,5
Potasse.	39,8	28,3
Phosphate de magnésie . .	16,8	22,6
Phosphate de chaux	2,3	9,7

La question de la composition immédiate et élémentaire des levûres n'est pas encore résolue ; mais d'une façon générale on est en possession d'un résultat, c'est que, au point de vue qualitatif, elle ne diffère pas sensiblement des autres cellules végétales, principalement de celles des champignons. Au point de vue quantitatif, elle se distingue par une grande richesse en azote.

Fonctions et physiologie de la levûre. — Nous avons exposé dans les pages qui précèdent les travaux qui ont prouvé que la levûre était une cellule vivante; nous avons appris à l'étudier morphologi-

quement dans son développement et sa reproduction, il nous faut maintenant connaître les conditions normales de sa vie, en un mot, sa physiologie; notions indispensables, si l'on veut comprendre sans difficulté son rôle dans la fermentation alcoolique.

Si la levûre est une cellule vivante, son protoplasma se nourrit et respire; pour ce faire, il a besoin d'oxygène, d'eau et d'aliments azotés, hydrocarbonés et minéraux. Le seul caractère différentiel et bien tranché, qui semblait en faire un être absolument à part, lui a été enlevé par M. Pasteur et par MM. Lechartier et Bellamy, lorsque ces chimistes sont venus établir que les cellules des fruits, des graines, des feuilles, voire même les cellules animales, sont aptes à décomposer le sucre en alcool et en acide carbonique.

Conditions normales de la vie de la levûre. — Nous appelons ainsi celles où la levûre croît, se multiplie et se reproduit avec le plus de facilité. Il y a des conditions physiques et des conditions chimiques.

Conditions physiques. — Celles-ci sont relativement simples et ont surtout rapport à la température. La levûre ne fait pas exception aux règles de température qui président à la vie des autres organismes végétaux, et c'est entre 25 et 35° C. qu'elle trouve le milieu calorique qui lui est le plus favorable. Au-dessus comme au-dessous de ces limites, plus on s'éloigne des chiffres que nous venons de donner, plus on crée de difficultés à la levûre pour sa vie normale ; mais il faut descendre au-dessous de

9° et monter au-dessus de 60° C. pour voir la vie de cet organisme s'arrêter complètement.

Conditions chimiques. — Celles-ci sont loin d'être aussi simples que les conditions physiques. C'est surtout à M. Pasteur qu'il appartient d'avoir définitivement fixé les conditions que doit remplir un milieu chimique pour être apte à nourrir la levûre. Ses élèves Duclaux et Raulin l'ont suivi dans cette voie.

La composition de la levûre, telle qu'elle ressort des travaux que nous publions plus haut, montre qu'elle contient de l'eau, des sels minéraux (phosphates alcalins, alcalino-terreux) et une forte proportion de substances azotées, albuminoïdes ou autres. On devra donc lui fournir pour son alimentation l'eau, les sels sus-énoncés et de l'azote, et cela fatalement, sans quoi son existence serait compromise.

A. — *Assimilation de l'azote*. — La levûre assimile-t-elle directement l'azote? Ce serait là une exception à la règle générale, qui veut que les végétaux soient incapables de puiser directement dans l'atmosphère l'azote dont ils ont besoin; nous avons vu qu'en tout et pour tout, la levûre se comporte comme une cellule végétale; elle suit donc la même règle pour l'azote et est incapable de l'assimiler directement.

Sous quelle forme la levûre va-t-elle prendre l'azote qui lui est nécessaire? Les expériences de Dubrunfaut tendent à prouver que le saccharomyces présente une activité vitale plus grande dans un milieu où on a mis un peu de nitrate de potasse; les recherches de Mayer contredisent cette assertion, et,

d'après lui, les cellules de la levûre sont incapables de réduire les nitrates. Ce n'est donc pas à ces sels que le saccharomyces emprunterait son azote; c'est là un point qui n'est pas encore, d'ailleurs, bien élucidé.

M. Pasteur a démontré l'heureuse influence des sels ammoniacaux sur la vie de la levûre. En semant des globules de saccharomyces dans des solutions de sucre candi pur contenant du tartrate d'ammoniaque, il a constaté que ces globules bourgeonnent et se multiplient, tandis que l'ammoniaque disparaît peu à peu du liquide. Cette expérience prouve que la levûre peut croître et se multiplier, vivre en un mot dans un liquide où l'azote est fourni uniquement par les sels ammoniacaux, et M. Pasteur en conclut que la levûre fait, avec l'ammoniaque unie au sucre, la synthèse des matières albuminoïdes. Le tartrate d'ammoniaque peut être remplacé dans le liquide de culture par un autre sel ammoniacal (nitrate, oxalate) sans inconvénient pour la vie de la levûre (Mayer).

S'il est vrai que la levûre peut s'alimenter en azote, uniquement aux dépens des sels ammoniacaux, il faut ajouter que ce n'est pas là son milieu de prédilection, celui qui lui est le plus favorable. Lorsqu'on substitue à ces sels ammoniacaux du jus de raisin, de betterave ou de l'eau de lavage de levûre, la quantité de saccharomyces formée pendant le même laps de temps est bien plus considérable : la diastase, les peptones, jouent vis-à-vis de la levûre un rôle analogue à celui des jus naturels que nous venons de nommer, c'est-à-dire que cette levûre empruntera, de préférence, ses éléments azotés à des composés jouis-

sant de la propriété de passer par osmose à travers es membranes.

B. — *Substances minérales.* — En ce qui concerne l'absorption des substances minérales, nous renvoyons le lecteur au livre II, où, dans le chapitre traitant de la nutrition des bactéries, nous exposerons cette question, principalement d'après les recherches de Raulin.

C. — *Matières sucrées.* — Le sucre est certainement l'aliment principal de la levûre, c'est pour elle une substance indispensable : sans matière hydrocarbonée, la levûre ne peut ni vivre, ni se nourrir, ni se multiplier. En effet, le saccharomyces, comme beaucoup de végétaux inférieurs, est incapable de fixer directement le carbone par décomposition de l'acide carbonique, comme cela se passe dans les grands végétaux.

Schützenberger fait remarquer très justement que cette assimilation du carbone aux dépens des hydrocarbures ne diffère pas essentiellement de ce qui se passe dans les végétaux supérieurs. Il y a là des phénomènes analogues à ceux que nous avons étudiés à propos de la vie *aérobie* et *anaérobie*, et que nous avons vus être identiques dans toute la série des êtres vivants. Il est certain que la différence entre les végétaux supérieurs et la levûre consiste uniquement dans le phénomène suivant : la levûre demande, pour vivre, des substances hydrocarbonées toutes faites ; les plantes sont munies d'organes (feuilles) capables de fabriquer ces substances sous l'influence de la

lumière solaire, qui leur fournit la force vive nécessaire pour dissocier l'acide carbonique.

Quoi qu'il en soit, les travaux et les expériences de M. Pasteur ont bien mis en lumière ce fait, que, dans la fermentation alcoolique, la levûre utilise une partie du sucre à fabriquer la cellulose nécessaire à la constitution de son organisme. Cela est rendu évident par ce fait, que, avec une quantité infinitésimale de levûre, on peut arriver à en fabriquer une notable quantité.

Le même phénomène se passe pour les substances grasses, que la levûre fabrique également aux dépens du sucre.

D. — *Eau.* — Il serait oiseux d'insister sur la nécessité absolue de l'eau pour la vie de la levûre; on peut dire qu'il n'est pas un seul être vivant pour lequel l'eau ne soit indispensable. Si on fait dessécher de la levûre avec beaucoup de précautions, elle cesse de végéter, mais, en l'humectant, on lui rend ses propriétés. Ceci explique pourquoi la fermentation ne peut se produire dans les solutions sucrées très concentrées; le sucre retient l'eau combinée et la levûre ne peut plus en disposer pour ses échanges nutritifs. Ce fait est bien connu et il est l'origine d'une fraude curieuse à l'octroi des villes, qui consiste à introduire, dans un vin en fermentation, une grande quantité de sucre; la fermentation s'arrête, mais, une fois l'octroi franchi, il suffit d'ajouter de l'eau pour la voir reprendre, et il est ainsi possible de faire plusieurs pièces de vin avec une seule.

E. — *Oxygène.* — La levûre de bière introduite

dans un liquide quelconque qui ne la tue pas, absorbe rapidement l'oxygène, qui peut y être contenu en dissolution, en rejetant de l'acide carbonique, véritable respiration analogue à celle de tous les êtres vivants.

Elle est capable d'absorber non seulement l'oxygène dissous, mais encore l'oxygène combiné à certaines substances ; c'est ainsi qu'en mettant de la levûre au contact du sang artériel, on le voit rapidement passer à l'état de sang noir ; il suffit d'agiter à l'air pour rendre au sang sa couleur primitive, et on peut ainsi recommencer l'expérience un certain nombre de fois.

Schützenberger a pu, dans une très élégante expérience, se servir de ces faits pour montrer l'analogie physiologique de toutes les cellules vivantes et montrer, combien est simple cette question des fermentations, lorsqu'elles sont considérées comme un phénomène vital. Il suffit de faire circuler lentement du sang rouge à travers un système assez long de tubes creux, dont les parois sont formées de baudruche mince et qui est immergé dans une bouillie de levûre délayée dans du sérum frais, sans globules, maintenue à 35°. On voit le sang rouge sortir noir ou veineux à l'autre extrémité.

Une contre-épreuve, faite dans le même temps avec un système de tubes en tout semblable, mais immergé dans du sérum sans levûre, prouve que la levûre est indispensable pour amener ainsi rapidement la désoxygénation du sang. Cette expérience, sauf la perfection employée par la nature pour multiplier les contacts et les surfaces, est l'image fidèle de ce qui se

passe dans l'organisme animal. Dans ce dernier cas, les éléments cellulaires et histologiques des tissus jouent le rôle de la levûre; ils absorbent l'oxygène dissous dans les liquides plasmatiques qui les baignent, et tendent constamment à ramener à zéro leur degré oxymétrique. L'oxygène fixé faiblement à l'hémoglobine rétablit l'équilibre par une suite de diffusions gazeuses des globules rouges au plasma sanguin, et du plasma sanguin au plasma des organes. Ces diffusions continuelles sont une conséquence inévitable des ruptures d'équilibre produites par la respiration des cellules organisées ou des cellules de levûre dans l'expérience décrite (Schützenberger).

Il résulte de toute cette étude que la levûre respire de l'oxygène comme tout être vivant, oxygène libre, ou oxygène combiné. D'après M. Pasteur, la fermentation alcoolique n'est en somme que le résultat d'une rupture d'équilibre dans la molécule du sucre, causée par la respiration de la levûre qui a pu lui soustraire de l'oxygène.

F. — *Substances étrangères qui influent sur la fermentation.* — Certains composés chimiques sont susceptibles d'arrêter la fermentation; ce sont ceux qui, soit par coagulation, soit par dissolution, sont capables de détruire la matière vivante : tels sont, par exemple, les alcalins et les acides énergiques, le nitrate d'argent, le chlore, l'iode, le phénol, l'alcool à 20 p. 100, un excès de sucre ; ces deux derniers corps sont utilisés, on le sait, pour les conserves de fruits. Quant aux sels, leur action a été étudiée par

M. Dumas et est résumée dans le tableau suivant :

1° La fermentation du sucre est totale, plus ou moins rapide :

Sulfate de potasse.
Chlorure de potassium.

Phosphate
Sulfovinate
Sulfométhylate
Hyposulfate
} de potasse

Hyposulfate de chaux.

Formiate
Tartrate
Bitartrate
} de potasse.

Sulfocyanure
Cyanoferrure
Cyanoferride
} de potassium

Phosphate
Sulfate
Bisulfate
Pyrophosphate
Lactate
} de soude.

Phosphate d'ammoniaque.
Sulfate de magnésie.
Chlorure de calcium.
Phosphate de chaux.
Sulfate de chaux.
Chlorure de strontium.
Alun.
Sulfate de zinc.
Sulfate de cuivre au $\frac{1}{10000}$

2° Fermentation partielle du sucre, et plus ou moins ralentie :

Bisulfite
Nitrate
Butyrate
Iodure
Arséniate
} de potassium

Sulfite de soude.
Hyposulfite de soude.
Hyposulfite de potasse.
Borax.

Savon blanc.
Nitrate d'ammoniaque.
Tartrate d'ammoniaque.
Sel de Seignette.
Chlorure de baryum.
Sulfate ferreux au $\frac{1}{350}$
Sulfate de manganèse $\frac{1}{350}$

3° Interversion plus ou moins avancée du sucre, sans fermentation :

Azotite
Chromate
Bichromate
} de potasse

Nitrate de soude.

Sel marin.
Acétate de soude.
Sel ammoniac.
Cyanure de mercure.

4° Ni interversion, ni fermentation :

Acétate de potasse.
Cyanure de potassium.
Monosulfure de sodium.

Fermentation alcoolique. — Après avoir étudié les conditions dans lesquelles la levûre naît, vit, se nourrit, il importe d'exposer rapidement quels sont les produits formés par l'évolution de ces globules. M. Pasteur a démontré que, outre l'alcool et l'acide carbonique, il se formait aussi de la glycérine et de l'acide succinique, et que ces corps étaient produits non par la levûre, mais aux dépens des éléments mêmes du sucre.

Voici, en résumé, les résultats obtenus par l'illustre chimiste :

100 parties de sucre de canne ($C^{12} H^{11} O^{11}$) correspondent à 105, 36 de sucre de raisin ($C^{12} H^{12} O^{12}$) et se décomposent comme il suit :

Alcool.	51,11
Acide carbonique	48,89 [1]
	0,53 [2]
Acide succinique	0,67
Glycérine	3,16
Matière cédée à la levûre . .	1,00
	105,36 glucose.
	100,00 sucre de canne.

[1] Quantité conforme à l'équation de Gay-Lussac (Schützenberger).

[2] Excès sur l'équation de Gay-Lussac (Schützenberger).

De sorte que, sur 100 parties de sucre de canne, 95 se décomposent en alcool et acide carbonique, 4 donnent de la glycérine et de l'acide succinique, une partie s'assimile à la jeune levûre.

CHAPITRE III

FERMENTATION ACÉTIQUE

La fermentation acétique consiste essentiellement dans la transformation de l'alcool en acide acétique, transformation qui s'accomplit sous l'action d'un ferment figuré, connu sous le nom de *mycoderma aceti*, depuis les recherches de M. Pasteur. Tandis que, dans la fermentation alcoolique, il suffisait de mettre en présence le ferment et la matière fermentescible, pour voir cette dernière accomplir les diverses transformations auxquelles elle est sujette dans ces conditions, dans le cas dont nous nous occupons maintenant il faut l'intervention d'un troisième facteur, l'*oxygène* : d'où le nom de fermentation par oxydation, qui a été donné à ce genre de réaction de chimie physiologique.

Le mycoderma aceti ne vit pas aux dépens de l'alcool comme la levûre aux dépens du sucre, il sert en quelque sorte de trait d'union, de fixateur, et constitue l'intermédiaire obligé entre l'alcool et l'oxygène de l'air.

Voyons d'abord quelles sont les réactions chimiques

élémentaires qui expriment les changements moléculaires et les échanges accomplis : la formule suivante les exprime.

$$\underset{\text{Alcool}}{C^2 H^6 O} + O^2 = \underset{\text{Eau}}{H^2 O} + \underset{\text{Acide acétique}}{C^2 H^4 O^2}$$

Cette fixation d'oxygène peut se faire en deux fois et nécessite la création d'un intermédiaire, l'aldéhyde; la formule devient alors :

$$\underset{\text{Alcool}}{C^2 H^6 O} + O = H^2 O + \underset{\text{Aldéhyde}}{C^2 H^4 O}$$

$$\underset{\text{Aldéhyde}}{C^2 H^4 O} + O = \underset{\text{Acide acétique}}{C^2 H^4 O^2}$$

La simplicité réelle de ce processus chimique nous dispense d'insister; mais il nous reste à expliquer de quelle manière s'opère cette oxydation sur la molécule de l'alcool.

Les mêmes divergences, ou tout au moins des discussions du même ordre, se sont produites pour la fermentation acétique comme pour la fermentation alcoolique, aussi serons-nous bref sur l'exposé de ces théories.

Les uns, se basant sur l'expérience classique de la transformation de l'alcool en acide acétique sous l'influence de la mousse de platine, pensaient que la porosité des corps jouait le rôle principal par une action de contact, *action catalytique*. La fabrication du vinaigre par le procédé dit procédé allemand semblait donner raison à cette manière de voir.

Dans la méthode française, au contraire, dite méthode d'Orléans, cette cause de la porosité ne pouvait

plus être invoquée, et les fabricants de vinaigre attribuaient l'acétification de l'alcool à l'action d'un résidu qu'on trouve dans les tonneaux après une fabrication antérieure, sorte de dépôt auquel on donnait le nom de *mère du vinaigre*.

Quant à Liebig, ses idées ne paraissaient pas fort arrêtées, et, suivant l'impression du moment, il expliquait le phénomène soit par la porosité des corps et les actions catalytiques, soit par cette sorte d'ébranlement communiqué aux substances organiques par des principes en voie de décomposition, ébranlement qui constituait pour lui, nous l'avons vu plus haut, la cause de toutes les fermentations.

C'est à M. Pasteur qu'il appartient d'avoir dissipé l'obscurité de cette question et d'avoir démontré que l'acétification de l'alcool et son oxydation se faisaient par l'intermédiaire d'un organisme inférieur, le *mycoderma aceti*.

Voici de quelle manière il a opéré cette démonstration : à la surface d'un liquide contenant en dissolution des phosphates et des matières organiques azotées, on sème le mycoderma ; celui-ci se développe et finit par recouvrir toute la superficie du liquide. Au moyen d'un siphon, on enlève alors avec précaution le liquide sous-jacent à la pellicule, et on le remplace par de l'eau alcoolisée à 10 p. 100. On voit alors l'acide acétique se développer, et l'opération peut se continuer indéfiniment, si l'on a soin, lorsqu'on voit la réaction se ralentir, de soutirer le liquide acide et de le remplacer par de nouvelle eau alcoolisée. Si l'on ne changeait pas ainsi le milieu

nutritif, le phénomène irait beaucoup plus loin, et l'expérience a montré que, une fois tout l'alcool disparu, le mycoderma s'attaque à l'acide acétique lui-même, qu'il transforme alors en acide carbonique et en eau, derniers termes de l'oxydation de l'alcool. On le voit, dans cette expérience, nous sommes loin de l'oxydation sous l'influence de la porosité des corps, et M. Pasteur a démontré, d'ailleurs, qu'attribuer l'acétification à la porosité des copeaux de hêtre était une erreur d'observation ; car, en examinant avec soin la surface de ces copeaux de hêtre, on la voit recouverte de petites pellicules de *mycoderma aceti*. Ces copeaux ne font que multiplier les contacts avec l'oxygène de l'air sans être la cause directe de l'acétification. Pasteur a donné de cette manière de voir une élégante démonstration : il fit écouler le long d'une corde, dans de l'air filtré, de l'eau alcoolisée ; l'expérience dura plus d'un mois avec une vitesse d'écoulement de une à deux gouttes par minute, condition essentiellement favorable à l'oxydation. Le liquide écoulé ne contenait pas trace de vinaigre. Mais, si on prend au préalable le soin d'ensemencer la corde avec un peu de pellicule de mycoderma, on voit l'acétification commencer immédiatement et se prolonger indéfiniment.

Le *mycoderma aceti* (fig. 14) appartient à la famille des bactéries, mais nous le décrivons ici à cause de son rôle de ferment. Il s'agglomère par le moyen d'une substance visqueuse interposée, sous forme de pellicules grisâtres, ridées ou lisses, à la surface des liquides en fermentation acétique. Il est formé par

des cellules à forme généralement cylindrique, dont la largeur et la longueur sont à peu près égales, à savoir 1,5 μ de large, sur 2 à 2,5 μ de long. Ce sont des bactéries à arthrospores, c'est-à-dire que le seul procédé connu de multiplication est la division transversale. Ces bactéries sont ordinairement disposées bout à bout, et prennent alors la forme, soit de petits bâtonnets, soit de filaments en chaînette. C'est à la présence du *mycoderma aceti* qu'est due la maladie du vin, dite maladie de l'acescence (vin piqué).



FIG. 14. — Mycoderma aceti.

La nutrition du ferment acétique ne s'éloigne pas sensiblement, d'après Pasteur, de celle des levûres, aussi doit-il trouver dans le milieu où il évolue des sels minéraux, des sels ammoniacaux et des matières protéiques ; son aliment de prédilection est l'alcool ; cependant nous avons vu plus haut que, une fois ce dernier consommé, le mycoderma pouvait transformer également l'acide acétique ; mais cette transformation est pour lui un pis aller, car il suffit de lui restituer de l'alcool pour le voir abandonner immédiatement l'acide acétique et se jeter sur son aliment favori.

Les substances antiseptiques arrêtent en général la fermentation acétique, et empêchent le développement du mycoderma ; c'est pour empêcher la production du ferment dans les tonneaux qu'on y brûle des

mèches soufrées, produisant ainsi de l'acide sulfureux, substance éminemment antiseptique.

Le développement du mycoderma aceti se fait mieux dans un milieu légèrement acide, aussi les fabricants de vinaigre prennent-ils soin d'introduire, dans le vin sur lequel ils opèrent, un peu de vinaigre d'une opération antérieure. En effet, dans les liquides neutres, le développement du ferment acétique est entravé par un autre organisme, le *mycoderma vini*, qui transforme directement l'alcool en acide carbonique et en eau sans passer par le terme acide acétique. Mais en présence d'acide acétique libre, ce mycoderma vini ne peut vivre, et c'est le ferment acétique qui reprend le dessus.

L'addition de vinaigre a d'ailleurs un autre but, car ce liquide contient toujours en grand nombre les germes du *mycoderma aceti*.

CHAPITRE IV

FERMENTATION LACTIQUE

La fermentation lactique est essentiellement constituée par la transformation en acide lactique d'un certain nombre de corps appartenant aux sucres (sucre de lait, sucre de raisin, etc.). Nous avons, plus haut, attiré l'attention sur la grande simplicité de la fermentation acétique : la fermentation lactique est d'un ordre encore plus élémentaire; il n'y a ici, en effet, ni perte, ni gain d'aucune sorte, et la fermentation lactique consiste en une simple transformation moléculaire, sorte de dédoublement de la matière sucrée.

Voici d'ailleurs la formule qui exprime cette réaction dans toute sa simplicité :

$$\underset{\text{Sucre}}{C^6H^{12}O^6} = \underset{\text{Acide lactique}}{2\,(C^3H^6O^3)}$$

La fermentation lactique est connue depuis longtemps ; c'est à cette fermentation que le lait doit de s'aigrir spontanément, et c'est du petit-lait aigri que, en 1780, Scheele retirait pour la première fois l'acide

lactique. Cette acidification du lait est loin d'être le seul exemple de fermentation lactique ; on voit cette réaction se développer dans l'eau de riz, dans les jus de betteraves, dans la choucroute.

La nature réelle et le mécanisme de la fermentation lactique étaient inconnus avant les travaux de M. Pasteur. Boutron et Frémy pensaient qu'elle était nécessairement liée à la présence des matières azotées albuminoïdes en voie de putréfaction dans un milieu alcalin ou neutre. Liebig y trouvait un sérieux appui pour ses théories générales sur la fermentation, puisqu'on n'y voyait pas de ferment organisé ; cependant, le ferment lactique avait déjà été entrevu par Remak (1841) et Blondeau (1848) ; Pasteur, persuadé que la fermentation lactique était, comme l'alcoolique, due à un ferment organisé, se mit à sa recherche, et voici comment il expose lui-même la façon dont il est arrivé à cette découverte : Si l'on examine, dit-il, avec attention une fermentation lactique ordinaire, il y a des cas où l'on peut reconnaître au-dessus du dépôt de la craie et de la matière azotée, des taches d'une substance grise formant quelquefois zone à la surface du dépôt ; cette matière se trouve d'autres fois collée aux parois supérieures du vase, où elle a été emportée par le mouvement gazeux. Son examen au microscope ne permet guère, lorsqu'on n'est pas prévenu, de la distinguer du caséum, du gluten désagrégé, etc., de telle sorte que rien n'indique que ce soit une matière spéciale, ni qu'elle ait pris naissance pendant la fermentation. Son poids apparent est toujours très faible, comparé à celui de

la matière azotée primitivement nécessaire à l'accomplissement du phénomène. Enfin, très souvent, elle est tellement mélangée à la masse de caséum et de craie, qu'il n'y aurait pas lieu de croire à son existence; c'est elle néanmoins qui joue le principal rôle.

Pour arriver à une démonstration complète, Pasteur fabrique de l'infusion de levûre, à laquelle il ajoute 100 grammes de sucre par litre et du carbonate de chaux. Il sème dans ce liquide une parcelle de la substance en question en ayant soin d'enlever l'air et de placer le vase à une température voisine de 35° C. En peu de temps, la fermentation est complète et le liquide peut fournir d'abondants cristaux de lactate de chaux.

Le ferment lactique (fig. 15) est un organisme anaérobie, qui se présente sous la forme de petits bâtonnets à peine une demi-fois plus longs que larges; il se reproduit par bipartition, mais quelquefois les bâtonnets divisés restent unis en chaînettes; ce bâtonnet est immobile.



FIG. 15. — Ferment lactique (*Bacillus lacticus*).

Il lui faut pour se développer une température oscillant entre 30 et 35° C. Il ne se développe pas bien dans un milieu ; acide, aussi pour avoir des fermentations lactiques rapides et complètes, faut-il mettre de la craie dans la liqueur. Au fur et à mesure

que l'acide lactique est formé, il se combine à la chaux et la neutralité du liquide est maintenue.

Nous avons vu que le ferment lactique se reproduit par scissiparité; mais, d'après Hüeppe, il pourrait aussi se reproduire par spores endogènes, ce qui devrait en somme le faire classer dans le genre bacille. Ce *bacillus lacticus* ne serait pas le seul bactérien susceptible de produire de l'acide lactique; c'est ainsi que le *micrococcus prodigiosus* jouirait de la même propriété. D'après Hüeppe, il y aurait dans la salive humaine deux microcoques capables de produire la fermentation lactique, et différant essentiellement du bacille lactique qui n'y aurait que rarement été rencontré.

Kéfir. — Le kéfir est un lait fermenté, dont l'usage s'est répandu depuis quelque temps dans la pratique médicale; il est d'un usage courant dans certaines contrées de la Russie. Il est fabriqué comme boisson par les habitants du haut Caucase, qui emploient pour sa confection du lait de vache, de chèvre ou de brebis. Cette boisson se fabrique en maintenant dans des outres le lait additionné de *graines de kéfir*. Au bout de quelques jours, le kéfir est fabriqué et se présente sous l'aspect d'une boisson gazeuse, légèrement acidulée. Elle renferme de l'acide carbonique et de 1 à 2 p. 100 d'alcool.

Les graines de kéfir sont des sortes de masses rugueuses, mamelonnées, rendues cassantes et jaunâtres par la dessiccation; ces masses sont formées d'un amas de bactéries réunies en filaments, collés les uns aux autres par une sorte de substance vis-

queuse interposée ; on y trouve aussi des cellules de levûre, se rapprochant de la levûre alcoolique ordinaire.

D'après Kern, qui a le premier décrit cet organisme, cette bactérie présenterait une spore à chaque extrémité, d'où le nom de *Dispora Caucasica* qu'il lui avait donné. De Bary conteste l'assertion de Kern et pense que ces spores n'existent pas.

Nous avons eu nous-même, dans le service de notre vénéré maître M. Dujardin-Beaumetz, l'occasion d'examiner des graines de kéfir, et jamais nous n'avons constaté de spores dans les bactéries qui les constituent. Nous pensons, comme de Bary, que la description de Kern est due à une fausse interprétation de ce qu'on a sous les yeux. En effet, la bactérie du kéfir a la forme d'un petit bâtonnet arqué à ses deux extrémités comme un petit cornichon, de sorte que, vue dans un certain sens, ses deux extrémités, se présentant de face, forment deux points plus foncés sur le reste du bâtonnet ; mais si l'on imprime un très léger mouvement au liquide de la préparation, on a souvent la chance de voir les bactéries se mettre de profil, et se montrer alors avec leur véritable forme (fig. 16), perdant leur apparente sporulation.



FIG. 16. — Bactéries des graines de kéfir (*Dispora caucasica de Kern*).

Voyons maintenant quelle est l'action de cette bactérie pour produire le kéfir.

Sous l'influence du ferment lactique, qui est toujours en certaine proportion dans les graines de kéfir, le lait devient acide et la caséine se coagule; d'autre part, la bactérie propre du kéfir sécrète une diastase qui intervertit le sucre de lait; celui-ci, qui ne pouvait fermenter directement, devient alors apte à être attaqué par la levûre, qui le transforme, partiellement au moins, en alcool et en acide carbonique.

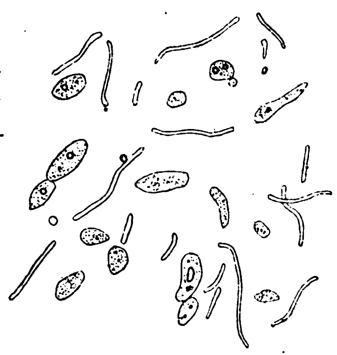


FIG. 17. — Bière tournée (d'après Pasteur).

Une particularité à noter, c'est que, malgré la coagulation de la caséine, le lait fermenté est très liquide; il se produit probablement, sous l'influence de la bactérie du kéfir, une peptonisation partielle, qui donne au liquide une grande fluidité; peut-être devrait-on attribuer à cette sorte de digestion anticipée les bons effets thérapeutiques obtenus par l'emploi du kéfir.

CHAPITRE V

FERMENTATION BUTYRIQUE

La fermentation butyrique est représentée essentiellement par la transformation de certains corps en *acide butyrique*. Cet acide est le corps qui donne au beurre le goût de rance, c'est de là que lui vient son nom ; il se produit en grande quantité dans la fabrication des divers fromages.

Beaucoup de substances sont susceptibles de fournir de l'acide butyrique comme produit de leur transformation; citons l'acide lactique, les sucres, les matières amylacées, les acides tartrique, citrique, malique, mucique, les substances albuminoïdes. Avec le glucose, la formule de transformation est représentée par l'équation suivante :

$$\underset{\text{Glucose.}}{C^6 H^{12} O^6} = \underset{\text{Ac. lactique.}}{2 C^3 H^6 O^3} = \underset{\text{Ac. butyrique.}}{C^4 H^8 O^2} + \underset{\text{Ac. carbonique.}}{2 C O^2} + \underset{\text{Hydrogène}}{H^4}$$

La fermentation des diverses substances que nous avons énumérées se fait-elle par un ferment spécial à chacune d'elles ? On ne saurait le dire, et la démonstration a été seulement faite par Pasteur pour la fermentation butyrique du sucre et du lactate de chaux.

La cause de la fermentation butyrique est un organisme appelé *Bacillus amylobacter*. C'est un bacille qui a environ 1 μ d'épaisseur ; il se présente (fig. 18) sous l'aspect de bâtonnets étroits, cylindriques, souvent réunis en filaments assez courts et très mobiles.



FIG. 18. — Bactérie de la fermentation butyrique (*Bacillus amylobacter*).

Au moment de la formation des spores, le bacillus amylobacter prend la forme de *bactérie en tête*. Chaque cellule-mère ne forme qu'une seule spore. Une des extrémités du bâtonnet se renfle en massue, et dans ce point renflé, on voit apparaître la spore qui a une forme ovale.

Les cellules du bacillus amylobacter possèdent un caractère distinctif important, celui de se teindre en bleu par les solutions iodées. Cette coloration, due à la présence de l'amidon ou de la granulose, ne peut plus se constater après la formation des spores.

Pasteur a considéré le bacillus amylobacter comme le type des ferments *anaérobies ;* cependant, il peut continuer à vivre en présence de l'oxygène libre, mais alors il ne produit pas la fermentation buty-

rique, c'est au contraire dans son rôle anaérobie qu'il produit cette fermentation.

La température la plus favorable pour son développement est 40° C. : il a besoin d'un milieu neutre ou légèrement alcalin. Un milieu acide s'oppose au développement des germes du ferment butyrique. Cependant, une fois formé, il peut vivre et provoquer la décomposition du sucre et de l'acide lactique dans un milieu acide, pourvu qu'il n'y ait pas excès d'acidité.



FIG. 19. — Maladie de la graisse des vins.

Le *bacillus amylobacter*, en provoquant la fermentation butyrique, joue un rôle des plus importants dans l'économie domestique ; c'est en grande partie à lui qu'est due la fermentation du fromage et la préparation nécessaire à son usage alimentaire.

Van Tieghem a montré que le bacillus amylobacter était un agent très actif de décomposition des plantes dont il détruit la cellulose ; il n'a aucune action sur les membranes subérifiées, sur les plantes aquatiques, les mousses et nombre de champignons ; il agit de préférence sur les membranes des tissus char-

nus, parenchymateux, comme dans les feuilles, l'écorce, les tiges herbacées, les tubercules.



FIG. 20. — Maladie de la pousse. Vin tourné.

La destrùction de la cellulose se fait au moyen d'une diastase, sécrétée par le bacille, diastase qui transforme la cellulose en dextrine et en glucose, et permet à la fermentation butyrique de se produire. L'empois d'amidon et les matières amylacées solubles sont attaqués par le bacillus amylobacter et ces matières peuvent servir de milieu de culture pour cet organisme. La destruction des organes végétaux mouillés s'opère par son action et cette propriété est utilisée par l'industrie (rouissage du lin, du chanvre). D'après Van Tieghem, le bacillus amylobacter aurait un rôle physiologique important; chez les ruminants, il aurait pour fonction de transformer dans l'estomac, la cellulose des plantes dont ils font leur nourriture en composés solubles assimilables. D'après le même auteur, aux époques géologiques, le ferment butyrique aurait grandement contribué à la formation de la houille par destruction de la cellulose. Le ferment butyrique joue également un rôle important dans la

décomposition des substances albuminoïdes et son action dans la putréfaction n'est pas douteuse ; nous réserverons cette étude pour un des chapitres suivants, où les diverses réactions de la fermentation putride seront l'objet d'une étude d'ensemble.

CHAPITRE VI

FERMENTATION AMMONIACALE

A l'état normal, l'urine fraîche présente une faible réaction acide, mais si on vient à la laisser exposée à l'air, elle devient rapidement alcaline et ammoniacale. Le changement dans les propriétés de ce liquide est dû à la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque. On sait que ces deux corps ne diffèrent l'un de l'autre que par les éléments de l'eau, ainsi qu'il ressort de la formule suivante :

$$CH^4\,Az^2O + H^2O = CO^2 + 2\,Az\,H^3$$

C'est à la transformation spontanée de l'urée en carbonate d'ammoniaque qu'on a donné le nom de fermentation ammoniacale. D'après Muller et Pasteur, cette transformation serait sous la dépendance d'un micrococcus en chaînette, qu'on rangeait autrefois dans les *torulacés* et qu'on désigne aujourd'hui sous le nom de *micrococcus ureæ*. Van Tieghem a fait une étude très complète de ce micrococcus.

Une solution d'urée pure dans l'eau se conserve

habituellement pendant longtemps ; et c'est à Pasteur que revient l'honneur d'avoir montré, le premier, que le micrococcus ureæ peut produire avec l'urée seule le même dédoublement qu'il accomplit dans l'urine. Ce dédoublement ne se produit pas directement, mais par l'intervention d'une diastase sécrétée par le coccus. L'organisme ferment de l'urée se présente (fig. 21) sous forme de cellules de 1,25 à 2 μ de diamètre qui sont le plus souvent réunies en chaînette : ces séries ne sont ordinairement pas rectilignes, mais recourbées en divers sens, et souvent pelotonnées sur elles-mêmes, simulant de petites zooglées.

FIG. 21. Micrococcus ureæ.

Jusqu'ici, on n'a pas encore vu de spores au micrococcus ureæ.

On peut le cultiver sur la gélatine, dans l'urine stérilisée, ou dans les solutions d'urée; sa croissance s'arrête lorsque le sol nutritif arrive à contenir plus de 10 p. 100 de carbonate d'ammoniaque.

Le ferment ne préexiste pas dans l'urine, et dans le cas de fermentation ammoniacale intra-vésicale, souvent observée, il serait apporté par un sondage ou pénétrerait dans le canal de l'urètre. Il y a cependant là un point très obscur de l'histoire de cet organisme, car il est aérobie et on ne comprend pas très bien où il pourrait, dans la vessie, prendre l'oxygène nécessaire à son existence. Quoi qu'il en soit, il est prouvé que la rétention seule de l'urine ne peut pro-

duire la fermentation ammoniacale spontanée, et lorsque le phénomène s'est produit on trouve toujours le micrococcus de l'urée. Le professeur Verneuil a montré que, chez une jeune fille hystérique, sondée après plusieurs jours de rétention, l'urine n'était pas ammoniacale.

Le micrococcus ureæ ne serait pas le seul organisme capable de faire fermenter l'urée; Miquel a trouvé dans l'air une forme en bâtonnet (fig. 22) qu'il a appelé *bacillus ureæ*, qui est anaérobie, et qui est également capable de transformer l'urée en carbonate d'ammoniaque.



FIG. 22. — Bacillus ureæ (Miquel).

M. Van Tieghem pense que le dédoublement par hydratation de l'acide hippurique en acide benzoïque et glycocolle, qui s'observe dans l'urine des herbivores, est dû à une fermentation analogue à celle qui dédouble l'urée. Le ferment serait identique au micrococcus ureæ; mais ce n'est là qu'une hypothèse qui demande vérification.

En somme, et pour résumer ce court aperçu de la fermentation ammoniacale, on peut dire que le dédoublement de l'urée dans l'urine *peut* être accompli par une bactérie spéciale; mais la présence de cette bactérie est-elle indispensable à la production de ce phénomène? C'est possible, mais c'est ce qu'il serait téméraire d'affirmer.

CHAPITRE VII

LA PUTRÉFACTION

On entend, sous le nom de putréfaction, les fermentations qui accomplissent la décomposition spontanée des substances albuminoïdes.

Ces phénomènes de décomposition sont extrêmement complexes, et leur nature intime est encore mal connue. On admet que la putréfaction est sous la dépendance du développement de bactéries diverses; cependant, quelques faits paraîtraient démontrer que, dans certains cas, une véritable putréfaction pourrait survenir en dehors de tout germe bactérien. M. Donné a fait des expériences sur l'altération spontanée des œufs, et il affirme que, si on prend un œuf intact, qu'on le vernisse avec du collodion par surcroît de précaution, et que par des secousses on détruise la structure intime de l'œuf, on voit apparaître tous les phénomènes de la décomposition putride : la matière de l'œuf est trouble, de couleur livide; elle exhale une odeur fétide au moment où on brise la coque, et cependant on ne peut y découvrir rien de vivant;

il n'y a pas la moindre trace d'animalcules ni de végétaux microscopiques.

M. Gayon arrive à des conclusions opposées; et il affirme que la putréfaction dans les œufs, en présence ou en l'absence de l'air, est corrélative du développement et de la multiplication d'êtres microscopiques de la famille des bactéries.

Il est difficile de trancher un différend qui produit deux affirmations aussi contradictoires; il est cependant permis de dire que la putréfaction spontanée de l'œuf est le seul exemple connu d'une putréfaction produite sans intervention de germes vivants.

Eu égard à la complexité des réactions qui se passent dans les putréfactions, il est facile de prévoir *a priori*, qu'elles ne peuvent pas être l'œuvre d'une seule espèce bactérienne.

L'expérience montre, en effet, que la putréfaction est la résultante de l'action de plusieurs bactéries, les unes aérobies, les autres anaérobies, faisant accomplir chacune à la matière albuminoïde une étape différente vers la décomposition. L'étude exacte des formes bactériennes qui concourent à la putréfaction, est à peine ébauchée, et nous nous contenterons de l'esquisser en quelques lignes.

Les différentes bactéries connues de la putréfaction sont les suivantes : le bacillus subtilis, le bacillus amylobacter, le bacillus megaterium, le bactérium termo. Tous ces organismes ont une propriété commune, qui est forcément le premier stade de la putréfaction, c'est la liquéfaction de la gélatine.

Bienstock a trouvé dans les excréments de l'homme

un bacille « en forme de baguettes de tambour » qui serait, d'après lui, l'agent principal, sinon le seul



FIG. 23. — Maladie de l'amertume des vins (d'après Pasteur). Les filaments retiennent avec eux des granulations de matière colorante.

de la décomposition des substances albuminoïdes. Placé en culture pure avec de la fibrine, ce bacille fait subir à cette substance toute une série de dédoublements, et l'amène finalement à se décomposer complètement en acide carbonique, eau et ammoniaque.

Ce bacille ferait défaut dans l'intestin des petits enfants à la mamelle, d'où à cet âge l'absence d'odeur putride des déjections intestinales.

C'est un bacille endosporé, ayant la forme de bactérie en tête et ressemblant au bacillus amylobacter.

Parmi tous les organismes de la putréfaction, le plus constant et peut-être le plus important est le *bacterium termo* (Cohn). On l'obtient en laissant macérer à l'air des graines de légumineuses dans l'eau. En faisant plusieurs ensemencements successifs dans le liquide de Cohn, on arrive à avoir des cultures

pures. Celles-ci se troublent les premiers jours, puis la surface du liquide se couvre d'un voile légèrement verdâtre.

Le bactérium termo liquéfie la gélatine avec une très grande rapidité. Il se présente sous l'aspect de petits bâtonnets de 1,5 μ de long, et 0 μ, 5 de large ; les cellules, très mobiles, sont ordinairement réunies deux à deux, et leur multiplication est extrêmement active. On ne connaît pas de spores au bactérium termo. Lorsqu'il est cultivé sur un liquide, il ne tarde pas à s'agglomérer à la surface sous forme de voile gélatineux verdâtre, constituant des zooglées, dans lesquelles les bâtonnets sont immobiles.

La marche de la putréfaction est probablement la suivante : le bactérium termo prive le liquide de tout son oxygène, et, en formant une pellicule à la surface, il empêche l'accès de ce gaz dans les parties profondes ; le rôle des anaérobies commence alors, et fait subir à la décomposition un degré de plus, et ainsi de suite.

La première étape de la décomposition des matières albuminoïdes est un changement qui les rend solubles dans l'eau, changement opéré par les diastases sécrétées par les bactéries.

Vient ensuite la production de substances solubles dans l'alcool, substances encore très complexes ; ce n'est qu'au delà de ces deux premiers degrés qu'apparaît la dislocation de la molécule de l'albumine et qu'on commence à voir se montrer des substances cristallisées : la leucine, la tyrosine, le glycocolle ; de la butalanine, différents alcaloïdes, des ptomaïnes ;

quelques produits volatils : l'indol, le scatol ; puis des acides volatils ou fixes à constitution simple ; acides acétique, butyrique, valérianique et oxalique. Ces acides, au lieu de se former à l'état de liberté comme dans la décomposition du sucre, se dégagent à l'état de combinaison avec l'ammoniaque. Enfin, comme derniers termes de la décomposition, l'on a de l'acide carbonique, de l'hydrogène carboné, sulfuré, phosphoré, qui donnent en grande partie l'odeur nauséabonde des fermentations putrides. La cause première des putréfactions, se confond avec celle des fermentations et ce serait faire double emploi que de l'exposer ici de nouveau.

LIVRE SECOND

ÉTUDE GÉNÉRALE DES BACTÉRIES

CHAPITRE I

HISTOIRE NATURELLE DES BACTÉRIES

La plupart des botanistes réunissent aujourd'hui sous le nom de *Bactériens* un certain nombre de végétaux inférieurs, dont la place dans les classifications a été et est encore très discutée.

On en a fait d'abord des animaux infusoires, puis on les a considérés comme représentant le groupe le plus inférieur du règne végétal, les réunissant tantôt aux champignons, tantôt aux algues, et enfin les confondant avec un certain nombre de représentants de ce dernier groupe, dans un ordre spécial désigné sous le nom de Schizophytes.

Leuwenhoeck le premier (*opera omnia, ed. Lugduni-Batavorum* (1722), II, 40) reconnut et figura un

certain nombre de ces êtres qu'il trouva dans le tartre des dents (*loc. cit.*, II, 40, fig. A, B, C, D, E, F, G). D'après sa description et les figures qui y sont jointes, il est impossible de ne pas voir dans les êtres qu'il décrit des espèces de bactéries, de vibrions ou de leptothrix, mais il ne leur donna aucun nom. Mêlant la substance blanchâtre qui se dépose autour des dents avec de l'eau parfaitement pure et ne contenant aucun animalcule et avec de la salive, « je vis presque toujours avec une grande admiration, dit-il, que cette matière contenait un grand nombre de petits animalcules, qui s'agitaient d'une façon remarquable ». Ces petits êtres, représentés dans les figures A, B, E, G, sont probablement, les uns des bactéries (fig. A, E), les autres des vibrions (fig. B, G), si l'on en juge par les formes et les mouvements qu'il leur assigne.

Indépendamment de ces êtres mobiles, il observa dans la même matière une immense quantité de stries différant beaucoup les unes des autres par la taille, mais offrant la même épaisseur et étant, les unes droites, les autres courbées (fig. F); elles étaient disposées sans ordre; et « comme auparavant, dit-il, j'avais observé dans l'eau des animalcules ayant la même apparence, je fis tous mes efforts pour observer s'ils étaient doués de la vie, mais aucun mouvement ne put m'indiquer en eux la moindre vitalité ». D'après cette description, et la figure qu'il en donne, on doit admettre que ces stries étaient des leptothrix. Ces petits êtres, auxquels Leuwenhoeck ne donne aucune dénomination, restèrent longtemps un simple objet

de curiosité, et aucun essai ne fut tenté, jusqu'à la fin du siècle dernier, pour les distinguer les uns des autres et les classer. (Lanessan.)

C'est à Müller, en 1773, que l'on doit la première classification qui fut tentée; d'après cet auteur, les bactéries appartenaient aux infusoires et se répartissaient en deux groupes *Monas* et *Vibrio*.

C'est surtout Ehremberg en 1838, et Dujardin en 1841, qui ont commencé une division scientifique des bactéries; cependant, ils les considéraient encore tous deux comme des animaux infusoires.

CLASSIFICATION D'EHREMBERG

I. Bactérium : filaments droits rigides.
II. Vibrio : filaments en forme de serpents flexibles.
III. Spirillum : filaments en spirales rigides.
IV. Spirochæte : filaments en spirales flexibles.

CLASSIFICATION DE DUJARDIN

I. Bactérium : filaments rigides, mouvements de vacillation.

II. Vibrio : filaments flexibles, mouvements d'ondulation.

III. Spirillum : filaments en spirales, mouvements de rotation.

En 1853, Robin montra le lien évident qui unissait les leptothrix et les bactériens et après lui Davaine affirma leur nature végétale et les rangea dans les algues.

Depuis ces premières tentatives, une quantité innombrable de travaux se sont succédés sur les bactéries; un certain nombre d'auteurs ont proposé des classifications; nous donnerons ici les principales de ces classifications, mais nous nous hâtons d'ajouter qu'aucune d'elles ne répond exactement à la nature des choses, et on peut dire, que dans l'état actuel de la science, aucune classification des bactéries n'est exempte de graves critiques.

PREMIÈRE CLASSIFICATION DE COHN

Dans un premier travail, Cohn rattachait les bactéries aux algues, bien qu'elles ne possèdent pas de chlorophylle, et les divisait en quatre tribus comprenant six genres :

I. Sphærobacteria : globules (micrococcus).

II. Microbacteria : courts bâtonnets (bacterium).

III. Desmobacteria : longs bâtonnets (bacillus-vibrio).

IV. Spirobacteria : spirales (spirochæte-spirillum).

Cette division fut vivement critiquée par Billroth, et Cohn la compléta dans une seconde classification. Dans cette seconde tentative, il ne rattacha les bactéries ni aux algues, ni aux champignons et les plaça dans un groupe spécial auquel il donna le nom de schizophytes. Il établit les genres par les caractères principaux de la forme et les espèces par des parti-

cularités physiologiques ou par des détails moins importants.

DEUXIÈME CLASSIFICATION DE COHN

Schizophytes : Thallophytes se développant par division ou par cellules germinatives endogènes.

PREMIÈRE TRIBU. — **A**. Cellules libres réunies par deux ou par quatre.

Cellules sphériques . . . *Chroococcus* (Naegeli).
Cellules cylindriques. . *Synechococcus* (Naegeli).

B. Cellules réunies en zooglées par une substance amorphe.

a. Membrane cellulaire confondue avec la substance intercellulaire.

Cellules sphériques . . . *Micrococcus* (Hallier).
Cellules cylindriques. . . *Bactérium* (Dujardin).

b. Substance intercellulaire disposée en couches concentriques.

Cellules rondes . . . . . *Glaeocapsa*.
Cellules cylindriques. . . *Glaeothece*.

C *a*. Cellules formant des zooglées circonscrites à forme définie, familles disposées en plaques dans une seule couche . . . . *Merismopedia*.

Cellules rondes disposées dans une zooglée en réseau . . . . *Clathrocystis*.

Cellules cylindriques, cunéiformes, famille divisée par étranglement. . . . . *Cœlosphærium*.

b. Cellules formant des familles à plusieurs couches

réunies en corpuscules cubiques, incolores à arrangement quaternaire . . . . *Sarcina*.

Nombre indéterminé et très grand de cellules incolores . . . . *Ascococcus*.

DEUXIÈME TRIBU. — Nématogènes : cellules en filaments.

A. *Sans ramifications :*

1° Cylindriques, incolores, à division peu prononcée, très fines, courtes, *Bacillus;* — longues, *Leptothrix*.

2° Filaments cylindriques, plus épais, longs, *Beggiatoa*.

3° Fragmentés à conidies incolores, *Crenothrix*.

4° Filaments spiralés, courts, ondulés, *Vibrio ;* courts, à spirales rigides, *Spirillum ;* longs, à spirales flexibles, contenant du phycochrome, *Spirochæte ;* filaments longs et spirales flexibles, *Spirulina*;

5° Filaments en chapelet sans phycochrome, *Streptococcus*.

6° Zooglœes cylindriques, incolores, *Myconostoc ;* en chapelet, *Nostoc;* filaments amincis à une extrémité, *Rivolaria*.

B. Filaments avec fausses ramifications, *Cladothrix;* filaments cylindriques incolores, *Streptothrix*.

CLASSIFICATION DE VAN TIEGHEM

Van Tieghem range tous les schizomycètes dans la famille des bactériacées, famille voisine des nostocacées et des oscillariées.

Les individus composés de petites cellules rondes appartiennent au genre *micrococcus*.

Ceux dont les cellules sont cylindriques appartiennent au genre *bacterium*.

Ceux dont les cellules sont unies en baguettes appartiennent au genre *bacillus*.

Les filaments indéfiniment longs, sans gaîne, constituent le *leptothrix;* les filaments engaînés le *crenothrix*; les filaments engaînés avec des ramifications, le *cladothrix*.

Le genre *vibrio* est formé de filaments enroulés qui se dissocient; le genre *spirillum*, de filaments plus longs disposés en hélices ; les *spirochaetes* sont plus longs et forment de nombreux tours de spire.

Les bactéries agrégées en zooglœes, constituées par des cellules rondes, unies par une couche épaisse de gélatine, ont reçu le nom d'*ascococcus;* agglutinées entre elles sans gélatine, elles prennent le nom de *punctula;* lorsque des cellules cylindriques sont unies par de la gélatine, on les appelle *ascobacteria;* sans gélatine, *polybacteria;* les bactéries ayant la forme de baguettes spirales et agrégées s'appellent *myconostoc*.

Au point de vue de leurs propriétés, Van Tieghem les divise en *chromogènes*, *ferments*, et *pathogènes*. Au point de vue de la direction du cloisonnement de la cellule ou thalle, il distingue trois tribus qui sont :

1° Les bactériées dans lesquelles le thalle se cloisonne dans une seule direction, comprenant les micrococcus, bactérium, bacillus, leptothrix, creno-

thrix, cladothrix, vibrio, spirillum, spirochæte, ascococcus, punctula, ascobacteria, polybacteria, myconostoc ;

2° Les mérystées, dans lesquelles le thalle membraneux se cloisonne suivant deux directions. Elles forment des tétraèdres carrés;

3° Les sarcinées, qui présentent trois directions de cloisonnement et qui sont cubiques.

CLASSIFICATION DE ZOPF

I. *Coccaceæ.* — Possédant (du moins autant que nos connaissances actuelles nous le font accepter) seulement des cocci et des filaments formés par la juxtaposition des cocci. La fissure se présente dans une ou plusieurs directions.

Genres : Streptococcus, micrococcus, merismopædia, sarcina.

II. *Bacteriaceæ.* — Possédant le plus souvent des cocci, bâtonnets (droits ou courbes) et des filaments (droits ou en spirale). Les premiers peuvent manquer et dans les derniers, il n'y a aucune distinction entre la base et le sommet.

La fissure (autant que nos connaissances nous permettent de l'établir) se fait dans une seule direction.

Genres : Bacterium, spirillum, vibrio, leuconostoc, bacillus, clostridium.

III. *Leptotricheæ.* — Possédant des cocci, des bâtonnets et des filaments (qui laissent voir une distinction entre la base et le sommet). Les filaments sont droits ou en spirale.

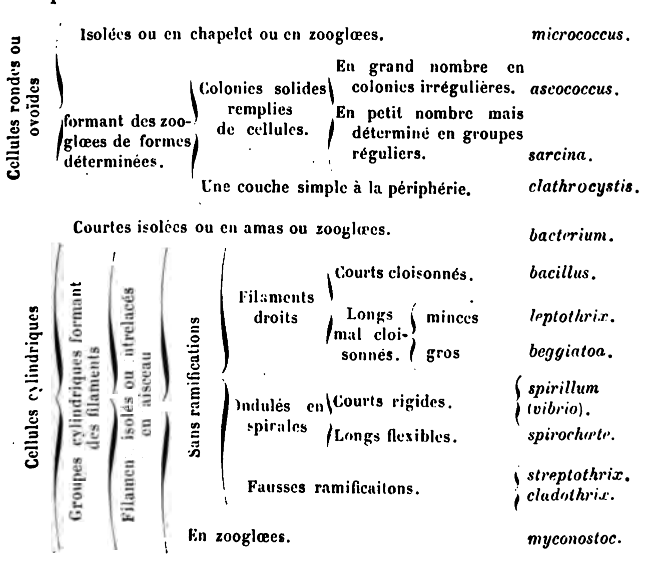
Genres : Leptothrix, beggiatoa, crenothrix, phragmidiothrix.

IV. *Cladothricheæ.* — Possédant des cocci, bàtonnets, filaments et spirales. Les filaments ont de fausses ramifications.

Genre : Cladothrix.

CLASSIFICATION DE RABENHORST

Suivie par Flügge, elle est très imparfaite, car les seuls caractères morphologiques sont en jeu, et il en résulte qu'à différentes phases de son développement une même bactérie peut être placée dans plusieurs espèces distinctes :



On voit, par la divergence de toutes ces classifications, que les idées sont loin d'être fixées sur une division scientifique des bactéries en genres et en espèces ; aussi dans le cours de cet ouvrage, nous n'adopterons aucune de ces classifications, pour rester libre d'allure et nous cantonner uniquement dans l'observation des faits. Lorsque nous parlerons de la reproduction des bactéries, nous verrons qu'elle se fait de différentes façons et nous nous contenterons alors de décrire les genres principaux (bactéries, bacilles, microcoques), dans lesquels on peut en somme faire rentrer tous les autres.

Cette extrême difficulté dans le classement des bactéries, a fait émettre des opinions contradictoires sur l'existence même d'espèces distinctes ; nous avons vu plus haut l'opinion de Billroth. Certains hommes de science ont pensé qu'elles pouvaient dériver d'organismes supérieurs ; c'est la question de la génération spontanée et de l'hétérogénie qui est discutée dans un autre chapitre de cet ouvrage.

Mais y a-t-il une fixité absolue des espèces bactériennes ? Ne sont-elles pas les phases successives d'un même organisme et peuvent-elles se transformer les unes dans les autres ?

Disons tout d'abord, que s'il en était ainsi, les bactéries feraient exception à cette règle que l'observation quotidienne a établie, c'est que dans le temps dont nous disposons pour l'observation, on n'a jamais vu une espèce animale ou végétale se transformer en une autre espèce. Jusqu'ici, le fait paraît établi pour les bactéries comme pour les autres êtres ; et

aucun des observateurs qui ont étudié la question, n'a pu apporter un seul fait positif en faveur de la mutabilité des espèces bactériennes. L'erreur provenait toujours d'une observation incomplète. En effet, comme tout être vivant, une bactérie naît d'un germe, se développe, et meurt, et dans cette série de transformations, elle se présente à l'observation avec des différences morphologiques considérables, suivant la phase que l'on a sous les yeux.

Il importe donc pour fixer les choses, d'étudier une bactérie pendant toutes les phases de sa vie, on peut avoir recours pour cela au procédé de la chambre humide que nous avons étudié ailleurs. En se plaçant dans ces conditions, on n'a pu jusqu'ici observer aucune transformation réelle d'une espèce en une autre ; les seuls changements qu'on voit s'opérer sont analogues à la germination d'un grain de blé, et dans les deux cas on revient à son point de départ, qui est la spore ou le grain de blé. Donc, jusqu'à plus ample informé, jusqu'à ce que les partisans de la mutabilité des espèces bactériennes aient fourni des preuves sérieuses à l'appui de leur dire, nous devons admettre la fixité des types bactériens.

Reste maintenant pour terminer l'histoire naturelle générale des bactéries, à fixer la place qu'elles occupent dans l'échelle des êtres vivants.

Il est certainement difficile, de faire rentrer intégralement les bactéries dans une des grandes familles du règne des végétaux inférieurs. Doit-on les placer parmi les algues, ou parmi les champignons ? Doit-on, au contraire, leur faire une

placé à part, intermédiaire à ces deux ordres de végétaux ?

Les bactéries qui se reproduisent par arthrospores, ou par scission transversale en articles, sont voisines du groupe des nostocacées, il ne leur manquerait pour en faire partie, que de posséder de la chlorophylle. Il nous suffira pour montrer cette parenté, de décrire ici le *Leuconostoc Mésenteroïdes*, d'après Van Tieghem.

Il consiste en une série de petites cellules rondes,



FIG. 24. — Leuconostoc Mesenteroïdes (d'après Van Tieghem).

a. Zooglée, grandeur naturelle. — *b*. Coupe d'une zooglée adulte. — *c* à *i*. Stades successifs depuis la spore adulte jusqu'à la reconstitution de la zooglée. — De *b* à *c* 500 diamètres.

arquées, en forme de chapelet, entourées par une masse considérable de gélatine compacte et réunies en zooglées (fig. 24). A la fin de la végétation, et

après l'épuisement de toute la nourriture, une grande partie des cellules meurt. Quelques cellules irrégulièrement situées dépassent de beaucoup les autres en grosseur, prennent des contours plus accusés, leur membrane devient plus compacte, leur protoplasma plus sombre. Enfin elles sont mises en liberté par liquéfaction de l'enveloppe gélatineuse. Elles peuvent désormais prendre le nom de spores, et ce nom est justifié par ce fait que placées dans un milieu nutritif, ces cellules germent et produisent des chapelets semblables aux chapelets primitifs.

Il est vrai d'ajouter, que la plupart des êtres de ce groupe, atteignent des dimensions notablement supérieures à celles des plus grosses bactéries.

Quant aux bactéries endosporées, il est difficile de les classer avec les nostocacées, et en réalité, ces organismes inférieurs doivent être placés dans un groupe isolé dans l'ensemble de la classification. La plupart des auteurs, en font un groupe à part dans la botanique, auquel ils donnent le nom de schizomycètes. Nous conservons pour nous le terme plus général de *bactéries*.

CHAPITRE II

MORPHOLOGIE ET PHYSIOLOGIE GÉNÉRALES DES BACTÉRIES

Structure des bactéries. — Etudiée à un point de vue un peu général, la morphologie des bactéries ne nous présente qu'un petit nombre de types, dans lesquels on peut établir des divisions de détail, mais dont les formes sont en somme très restreintes. Les bactéries s'offrent à nous comme des cellules toujours très petites, affectant soit une forme arrondie, soit une forme en bâtonnet, celui-ci pouvant s'allonger jusqu'à devenir un filament, enfin plus rarement on les voit sous l'apparence d'un fuseau. Les bactéries uniformément rondes sont en général les plus petites, et leurs dimensions dans tous les sens, dépassent rarement un millième de millimètre ou μ. Les bactéries en bâtonnets, ont ordinairement une longueur de deux à quatre fois plus grande que leur largeur, qui, presque toujours très petite, dépasse rarement 1 μ. Il en est cependant de plus épaisses, mais les plus grosses n'ont jamais plus de 3 à 4 μ d'épaisseur et encore ces grandes dimensions sont-elles rares.

Les bactéries sont de véritables cellules végétales,

mais leur extrême petitesse n'a pas encore permis de découvrir leur structure intime et on ne leur connaît pas de noyau cellulaire. La cellule bactérienne, est formée de protoplasma, homogène, un peu trouble, transparent, quelquefois finement granuleux. Le protoplasma des bactéries, ne diffère pas essentiellement de celui des autres êtres animés, et il possède les réactions de l'albumine et de la nucléine; il se colore en jaune par l'iode et fixe énergiquement le carmin et les couleurs d'aniline.

Le protoplasma des bactéries, est ordinairement incolore, mais certaines espèces, présentent cependant une légère coloration vert pâle, due à la présence d'une certaine quantité de chlorophylle.

Il existe quelques bactéries qui sont vivement colorées en rouge, jaune, vert, bleu, etc., et pour ces espècés qui sont peu nombreuses, il est difficile de déterminer, si la coloration appartient à l'enveloppe de la cellule ou au protoplasma lui-même.

Un certain nombre de bactéries, parmi lesquelles le *bacillus amylobacter* de la fermentation butyrique, possèdent les réactions de la granulose et de l'amidon; leur protoplasma, dans certaines parties de la cellule plus réfringentes, possède la propriété de se colorer en violet par une solution aqueuse faible d'iode.

Les *beggiatoa* possèdent dans leur protoplasma de petites parcelles de soufre (fig. 25).

Le protoplasma des bactéries n'est pas libre, mais recouvert d'une enveloppe, véritable membrane cellulaire : chez les bactéries vivantes, cette enveloppe peut être aperçue au microscope, sous forme d'une

ligne très fine qui délimite la surface du protoplasma; mais lorsque ce dernier est contracté par certains réactifs, par exemple la solution alcoolique d'iode, la membrane se distingue très facilement.

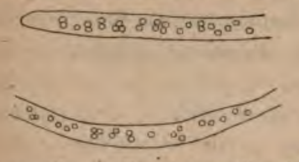


FIG. 25. — Beggiatoa (d'après Warming).

La membrane cellulaire, n'est que la couche la plus interne d'une sorte d'atmosphère gélatineuse, qui entoure toute la cellule; l'enveloppe gélatineuse peut dans un grand nombre de cas être vue directement au microscope; cette membrane gélatineuse rapproche les bactéries des leuconostoc (fig. 24) et elle est probablement formée d'un hydrate de carbone voisin au point de vue chimique de la cellulose. Chez certaines bactéries (cladothrix, crenothrix), la membrane est souvent colorée par des substances ferrugineuses.

Mouvements des bactéries. — Un grand nombre de bactéries sont parfaitement immobiles, et leur progression dans l'espace, dépend des mouvements du véhicule où elles sont suspendues; beaucoup d'espèces au contraire sont mobiles, et animées de mouvements variés plus ou moins rapides; ce sont tantôt de simples mouvements oscillatoires, tantôt une propulsion en avant ou en arrière souvent très rapide. Ces mouvements seraient dus tantôt à des contractions vermiculaires du protoplasma, tantôt à l'impulsion donnée par des cils vibratils. L'existence de ces cils

n'est mise en doute par aucun bactériologiste : la photographie beaucoup plus sensible que l'œil humain les mettant en évidence d'une manière indubitable; mais les auteurs sont loin d'être d'accord sur l'interprétation à donner au rôle physiologique de ces organes.

D'après Cornil, il n'existerait pas de cils sur les bactéries rondes proprement dites; mais sur les bactéries allongées, il y en a toujours deux, trois ou quatre et la mobilité de l'organisme serait fatalement liée à la présence des cils. Nous dirons que cette opinion est au moins exagérée, car il est des plantes inférieures appartenant au groupe des algues, par exemple les oscillariées, qui sont douées de mouvements très étendus, sans qu'on ait jamais pu leur trouver d'organes de locomotion; l'observation en est facile et élémentaire, dans la première mare venue dont l'eau est examinée au microscope; dans ce cas, les mouvements sont dus soit aux contractions du protoplasma, soit aux mouvements de liquide nécessités par les échanges nutritifs qui se feraient avec plus d'activité en certains points de l'organisme.

D'après de Bary, les prolongements filiformes, observés sur les bactéries, ne peuvent en aucune façon être assimilés à des organes de mouvement, et ils ne sont même pas sous la dépendance de la substance protoplasmique; et d'ailleurs, dans l'immense généralité des cas, chez des espèces bactériennes très mobiles, observées mortes et colorées, on ne retrouve pas trace de ces cils avec les meilleurs

instruments d'optique. M. Van Tieghem pense également que les cils ne sont pas des prolongements du protoplasma, mais qu'ils sont des filaments très ténus, provenant de la couche gélatineuse externe: au moment de la bipartition d'une bactérie, en vertu de la viscosité de l'enveloppe gélatineuse, celle-ci, dans la séparation des deux êtres, s'étire en filaments, persiste pendant quelque temps, mais finit par disparaître. Si l'organisme est mobile, ce prolongement oscille de part et d'autre ; c'est ce qui fait croire qu'il est la cause du mouvement de la bactérie, tandis qu'au contraire, il est probable qu'il n'a qu'un mouvement communiqué par celle-ci.

Il paraît donc, d'après l'autorité des naturalistes les plus compétents, que les mouvements des bactéries ne seraient pas dus, au moins dans la grande généralité des cas, à des cils vibratils, mais aux contractions dans divers sens, du protoplasma même de la cellule. De toute façon, ces mouvements sont de plusieurs espèces : tantôt, c'est un mouvement vibratoire et de propulsion (vibrion), tantôt, un mouvement oscillatoire dans divers sens. Les spirilles n'ont pas, comme le disent Cornil et Babès, des mouvements de reptation et d'oscillation ; ces organismes sont contournés en spirale, en tire-bouchon et leurs mouvements sont analogues à ceux d'une hélice, qui se visse en quelque sorte dans le liquide.

Principaux types de bactéries. — Différentes sortes de groupements. — Ainsi que nous l'avons dit plus haut, examinée à un point de vue très géné-

ral, la morphologie des bactéries est très simple et toutes les espèces peuvent être ramenées à un très petit nombre de formes élémentaires; mais nous verrons plus loin, que ces formes générales peuvent subir des modifications de détail, ou des variétés de groupement et d'arrangement réciproque, qui permettent de différencier un grand nombre d'espèces.



FIG. 26.
Micrococcus isolés.

Les trois formes élémentaires des bactéries sont : la forme ronde et la forme en bâtonnets droits ou contournés en spirale : une bille de billard, un crayon et un tire-bouchon donnent une idée très exacte de ces trois types (de Bary).

Nous pouvons constituer quatre types généraux de bactéries :

1° Les microcoques.
2° Les bactéries proprement dites (genre bactérium).
3° Les bacilles.
4° Les spirilles.

A. *Micrococcus*. — Les micrococcus sont des organismes de forme arrondie, ordinairement tout à fait sphériques, quelquefois ovoïdes; ils sont habituellement très petits. Il est souvent difficile en pratique de les distinguer des granulations inertes, déposées au fond des liquides ou des spores de bactéries. Les méthodes de coloration et de culture seront souvent indispensables pour cette différenciation.

B. *Bactérium*. — Ces organismes se présentent au

microscope, sous forme de bâtonnets courts, mobiles, isolés ou réunis deux par deux : les articles des bactériums sont ordinairement courts, ayant à peine une longueur double de leur largeur. Les bâtonnets sont ordinairement légèrement renflés à leurs deux extrémités.



FIG. 27. — Diplococcus. Point double ou microbe en 8.

C. *Bacilles*. — Dans la forme bacillaire, les bâtonnets sont beaucoup plus longs que larges et s'allongent quelquefois en filaments très longs : les cellules sont souvent placées bout à bout; elles sont toujours cylindriques et rigides.



FIG. 28. — Micrococcus en chaînette. Streptococcus. (Erysipèle, pus), préparation, dessinée d'après un liquide de pleurésie purulente d'emblée.

D. *Spirilles*. — Ce sont des organismes formés de filaments non extensibles, contournés en hélice et toujours mobiles ; ils ont l'aspect général d'un petit ressort à boudin, dont le nombre des spires est assez variable, suivant les espèces, depuis un tour ou un tour et demi, jusqu'à huit ou dix tours de spire.

Ces divisions, adoptées pour la commodité de la description, ne sont pas aussi tranchées dans la nature ; c'est ainsi qu'il est souvent difficile de dis-

tinguer certaines bactéries très petites, des micrococcus.

La différence entre les bactériums et les bacilles est encore plus délicate. Il y a des formes de passage, qui établissent des transitions insensibles entre tous les degrés de la classification des bactéries : c'est ainsi qu'entre les bacilles et les microbes spiralés, se placent naturellement les vibrions.

Voici quels sont les grands cadres, dans lesquels on peut faire entrer toutes les espèces bactériennes ; il reste maintenant à examiner, comment sont formées

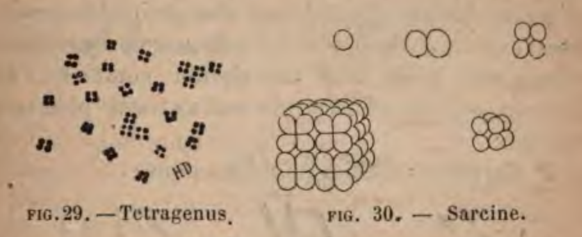


FIG. 29. — Tetragenus. FIG. 30. — Sarcine.

les différentes variétés, par les modifications de forme et de groupement de ces types élémentaires.

Nous avons vu plus haut, que les cellules des bactéries jouissaient de la propriété de sécréter une sorte d'enveloppe gélatineuse ; lorsque cette enveloppe est très abondante, les bactéries peuvent s'agglutiner entre elles, et constituer des sortes d'amas fortement réunis, formant des colonies par agglomération d'un grand nombre d'individus. Ces amas ont reçu le nom de *zooglées ;* ils ne sont pas spéciaux à une forme bactérienne, mais bien communs à toutes les bactéries : toutes les formes peuvent constituer des zoo-

glées, et il peut y avoir des zooglées de microcoques, des zooglées de bacilles, des zooglées de spirilles.

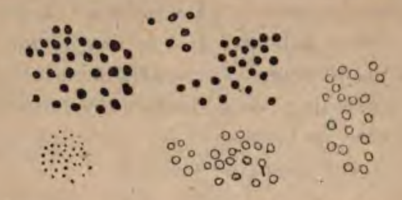


FIG. 31. — Staphylococcus. Zooglées de microcoques.

Nous ne décrirons pas en détail, toutes les variétés d'aspect des bactéries, dues à la diversité des groupements ; nous ne ferons que les indiquer succinctement, renvoyant pour une description complète, aux ouvrages d'histoire naturelle ou aux traités plus volumineux.

1° Formes arrondies ou microcoques :

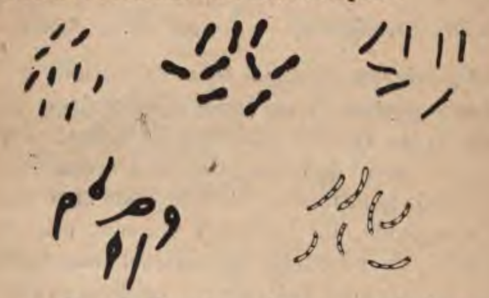


FIG. 32. — Différentes variétés morphologiques de bactéries isolées.

a. *Micrococcus* isolés (fig. 26). Exemple : la rage, la blennorrhagie.

b. *Diplococcus*, ou point double, ou microbe en 8 de chiffre (fig. 27).

c. *Streptococcus* (fig. 28), cellules disposées en chapelet. Exemple : le streptococcus pyogènes, le streptococcus de l'érysipèle, le leuconostoc mesenteroïdes, la septicémie de Charrin, l'infection puerpérale, le ferment de l'urée.



FIG. 33. — Bactéries doubles.
a Bactérie vulgaire provenant de l'air. — *b*. Choléra des poules. — *c*. Bactérie pneumonique.

d. *Tétragenus*, cellules réunies quatre par quatre (fig. 29) exemple : la septicémie des souris. On trouve aussi les tétrageni dans les parois des cavernes tuberculeuses et dans le pus des abcès métastatiques.

e. *Sarcines*, cellules réunies en groupes cubiques de huit individus (fig. 30). Elles simulent assez bien une balle de coton liée avec trois cordes perpendicu-

laires. Ce groupement peut aller plus loin et donne aux zooglées de sarcines des formes géométriques.

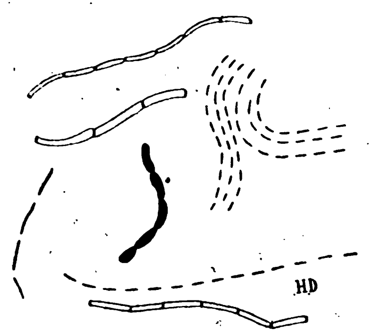


FIG. 34. — Diverses formes de bactéries rangées sous forme de chaînettes.

f. *Zooglées*. Les zooglées de micrococques forment tantôt les staphylococcus (fig. 31), tantôt les asco coccus.

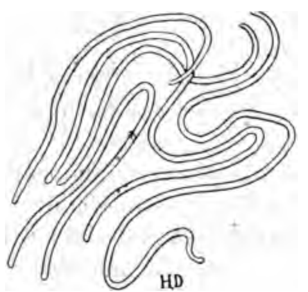


FIG. 35. Bactérie en filament (charbon). Dessin à la chambre claire d'après une culture en chambre humide.

2° Formes en bâtonnets :

a. *Forme de bactérie isolée* (fig. 32). Exemple :

bactérium termo, bacillus amylobacter, bacille de la tuberculose.

b. *Forme de bactérie double* (fig. 33). Exemple : choléra des poules, bactérie pneumonique.

c. *Forme en chaînette* (fig. 34). Exemple : bacillus subtilis, un grand nombre de bacilles vulgaires.



FIG. 36. — Vibrion. (Vibrion septique de Pasteur), d'après une urine putréfiée.

FIG. 37. — Spirilles vulgaires (eau croupie).

d. *Forme en filament* (fig. 35). Exemple : charbon, leptothrix de la salive.

3° Formes spiralées :

a. *Vibrions* (fig. 36), filaments peu rigides, mobiles, ondulés. Exemple : le vibrion septique.

b. *Spirilles proprement dits* (fig. 37), en tire-bouchon, produisant des virgules par division des spires. Exemple : le choléra asiatique.

c. *Spirochæte* (fig. 38), filaments beaucoup plus longs et plus déliés que les spirilles. Exemple : le spirochæte de la bouche, le spirochæte obermeieri de la fièvre recurrente.

Reproduction des bactéries. — Envisagée à un point de vue général, la reproduction des bactéries

peut se faire de deux façons différentes, suivant les conditions où elles se trouvent placées, soit par division, soit par sporulation.

Etudions d'abord la multiplication par bipartition.

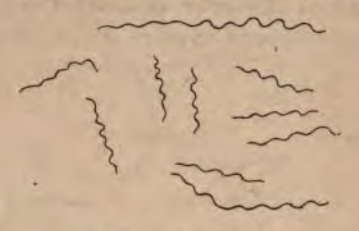


FIG. 38. — Spirochætes.

Dans les formes bacillaires, on voit le petit organisme s'allonger plus ou moins, suivant les espèces. A un moment donné, on voit la cellule mère se partager en deux cellules-filles (fig. 39). Le phénomène commence par l'apparition d'nne fine cloison transversale : au début, cette cloison est si fine, qu'elle

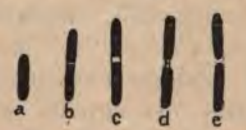


FIG. 39. — Bactérie se multipliant par bipartition.

a. Bactérie adulte. — *b*. Formation de la cloison. — *c*. à *d*. Accroissement des deux segments. — *e*. Division définitive en deux bactéries semblables à la cellule mère.

échappe souvent à l'observation directe, et il faut, pour la mettre en évidence, l'action des réactifs qui contractent le protoplasma, comme la solution alcoo-

lique d'iode. Il arrive souvent, qu'au lieu d'une cellule qui se divise par bipartition, c'est un filament (fig. 40) dans l'intérieur duquel apparaissent plusieurs cloisons toutes parallèles.



FIG. 40. — Multiplication d'une bactérie par cloisons transversales dans un filament.

a, b, c, d, e, — Diverses phases du phénomène.

Pour les microcoques, le procédé est un peu différent et se rapproche du bourgeonnement de la levure ; le globule primitif bourgeonne, formant ainsi un globule qui grossit, et après avoir atteint le volume de son aîné, devient lui-même le point de départ d'une nouvelle progéniture ; toutes les variétés peuvent être observées suivant que l'organisme est simple, double ou en chaînette.

Cette reproduction par division se produit, lorsque les bactéries sont dans un milieu où elles peuvent trouver une nourriture abondante ; mais si les éléments nutritifs s'appauvrissent, on assiste à la reproduction par spores. Il faut à ce point de vue distinguer deux groupes de bactéries, les unes qui se reproduisent par *spores endogènes* ou *bactéries*

endosporées et les autres qui sont les *bactéries arthrosporées*.

Le groupe des bactéries endosporées, comprend les formes bacillaires et spirillaires : au moment où la sporulation va avoir lieu, on voit apparaître dans le protoplasma du bâtonnet, un petit point qui grossit et représente bientôt un corpuscule arrondi, ovoïde, plus réfringent que le corps du bâtonnet; son développement se fait généralement très vite, et le corpuscule germe ou spore atteint son volume définitif dans l'espace de quelques heures. La spore a toujours un volume plus petit que la cellule qui lui a donné naissance. Dans certaines espèces, la spore apparaît à l'une des extrémités de la cellule mère qui prend alors la forme d'un œuf ou d'un fuseau et on peut voir dans ces cas se former les *bactéries en tête*, par exemple dans le bacillus amylobacter (fig. 18).

Chaque cellule mère ne contient qu'une seule spore, et, ainsi que nous l'avons déjà dit, cette sporulation se manifeste lorsque le substratum de culture est épuisé ou lorsqu'il est infesté par les produits d'excrétion du microbe lui-même; cependant cette loi n'est pas absolue, et en particulier pour le bacillus amylobacter, on peut voir certains bâtonnets se sporuler de bonne heure, pendant que la plupart des autres continuent à végéter et à se diviser.

Quand les spores sont arrivées à maturité, elles sont aptes à la *germination;* la membrane de la cellule mère se dissout peu à peu et la spore se trouve mise en liberté.

Les spores ont une membrane lisse, solide, mais

très mince et entourée d'une couche gélatineuse, derniers restes du protoplasma de la cellule d'origine. Leurs dimensions sont en général très petites, et ne dépassent que rarement un μ.

Lorsque la spore à maturité est placée dans un milieu convenant à son espèce, la germination se produit. La spore commence par devenir moins réfringente et perd son éclat; puis, en un point, la membrane d'enveloppe se fend et laisse passage à l'accroissement du protoplasma qui formera le futur bâtonnet. Cette sorte de déhiscence de la coque de la spore, se fait d'une manière différente suivant les espèces; ainsi, pour le *bacillus amylobacter*, la membrane se fend suivant le grand diamètre de la spore, et pour le *bacillus subtilis*, la division se fait transversalement sous forme de deux capuchons aux deux extrémités de la spore. La membrane, ainsi détachée, reste adhérente à la nouvelle cellule, ne tarde pas à se gélifier, et devient très difficilement visible. Le nouvel organisme se développe en général très vite, et quelques heures après le début de la germination, la végétation est en pleine activité.

Conditions physiologiques de la vie des bactéries. *Eau.* — La présence de l'eau est indispensable à la vie de toute cellule vivante quelle qu'elle soit, et les bactéries ne font pas exception à cette règle : la dessiccation non seulement empêche la végétation des bactéries, mais encore les tue très rapidement. Il y a cependant des exceptions à cette règle, par exemple pour le *micrococcus prodigiosus*. Les spores résistent

bien mieux au manque d'eau que les cellules adultes. D'après Brefeld, les spores du *bacillus subtilis* résisteraient trois ans à la dessiccation. Le rôle de l'eau, paraît surtout servir en grande partie comme véhicule pour les matières assimilées, élaborées ou excrétées.

Oxygène. — L'oxygène sert à la respiration des bactéries, et il y a élimination d'acide carbonique. Mais il y a ici une différence fondamentale à établir entre les diverses espèces au point de vue de la nécessité de l'oxygène, différence qui a été faite surtout par M. Pasteur. Il existe en effet des bactéries, qui ont besoin pour végéter, de la présence de l'oxygène libre, ce sont les bactéries *aérobies;* d'autres au contraire, voient leur développement contrarié et même arrêté par la présence de l'oxygène libre, ce sont les *anaérobies*, par exemple le bacillus amylobacter. Cependant, cette distinction n'est pas absolue, et il existe des formes intermédiaires ou indifférentes qui peuvent également s'accommoder de la présence ou de l'absence d'oxygène libre.

Les anaérobies ne peuvent donc vivre, qu'en empruntant leur oxygène aux substances avec lesquelles ils sont en contact, et en les décomposant; certaines bactéries aérobies sont tuées par l'oxygène pur, lorsque ce gaz est comprimé à 15 atmosphères et qu'on prolonge longtemps son action.

Nutrition minérale des bactéries. — Les remarquables recherches de M. Raulin, ont montré quel rôle important, les substances minérales jouaient

dans l'alimentation des organismes inférieurs, et, comment la variation la plus infime en apparence dans les milieux nutritifs, pouvait modifier profondément la vie de ces êtres. Ses recherches n'ont pas

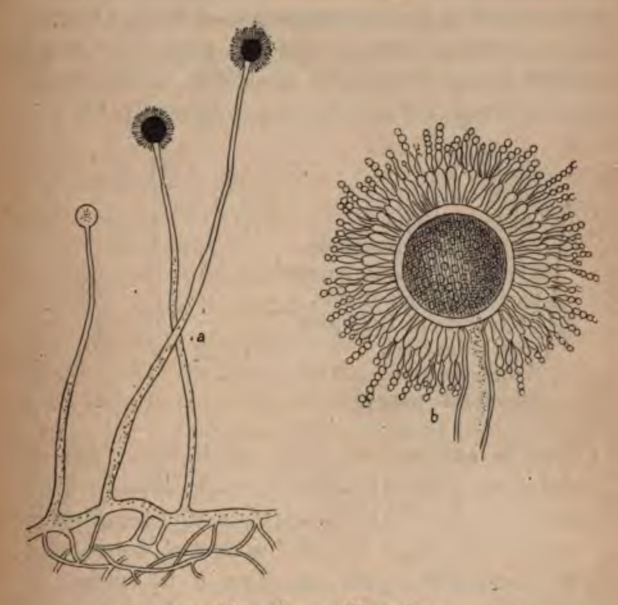


FIG. 41. — Aspergillus niger.

a. — Filaments de mycelium portant des tubes sporifères. — *b.* Tête sporifère grossie.

porté sur des bactéries proprement dites, mais sur des champignons inférieurs du groupe des mucédinées et principalement sur l'*aspergillus niger* (fig. 41).

Si l'on veut répéter les expériences de Raulin, rien

n'est plus simple que de se procurer l'aspergillus niger : il suffit de mettre une tranche de pain humide à l'air pendant une demi-heure, et de l'enfermer ensuite sous une cloche. Au bout de deux ou trois jours, le pain est en général couvert des fructifications de l'aspergillus, qu'on reconnaît à ses longs filaments blancs, soyeux, terminés par une petite tête noire. Le liquide nutritif le plus favorable au développement de l'aspergillus a la composition suivante :

Eau.	1500	gr.
Sucre candi	70	
Acide tartrique	4	
Nitrate d'ammoniaque	4	
Phosphate d'ammoniaque. . .	0	,60
Carbonate de potasse.	0	,60
Carbonate de magnésie. . . .	0	,25
Sulfate de zinc.	0	,07
Sulfate de fer	0	,07
Silicate de potasse	0	,07

Pour la culture, on place ce liquide dans des cuvettes de porcelaine plates, où le liquide a une hauteur de 20 à 30 millimètres, à une température voisine de 35°, dans un air humide et convenablement renouvelé ; puis on sème à la surface du liquide des spores d'aspergillus : au bout de vingt-quatre heures, on voit apparaître à la surface une membrane blanchâtre, qui finit par recouvrir toute la surface, c'est le mycélium du champignon. Le second jour commence la fructification, et au bout de trois jours, la végétation est complètement terminée.

Cela fait, on enlève la plante et on sème de nou-

velles spores sur le liquide restant; trois jours après on obtient une nouvelle récolte, un peu plus faible que la première: l'ensemble de ces deux récoltes équivaut à 25 grammes de plante pesée à l'état sec, et le liquide nutritif est complètement épuisé.

Avec ces données, il devient possible d'étudier l'influence de la suppression d'une de ces substances ou de l'addition d'une autre. C'est ainsi, que la suppression de la potasse fait tomber la récolte de 25 gr. à 1 gr., c'est-à-dire qu'elle devient le $\frac{1}{25}$ de ce qu'elle est dans le liquide normal. Quand on supprime les phosphates elle tombe à $\frac{1}{200}$ et à $\frac{1}{150}$ par suppression de l'ammoniaque.

Un fait curieux, consiste dans les conséquences de la suppression du zinc qui, malgré la très faible proportion où il est dissous, amène à faire tomber la récolte au $\frac{1}{10}$ de l'état normal. L'action des substances nuisibles s'exerce encore d'une façon plus saisissante; c'est ainsi que si l'on ajoute au liquide nutritif un seize cent millième ($\frac{1}{1.600.000}$) de nitrate d'argent, la végétation est brusquement arrêtée; elle ne peut même pas commencer dans un vase d'argent, bien que dans ces conditions l'analyse chimique la plus délicate, soit impuissante à révéler la moindre trace d'argent dans le liquide. La végétation est arrêtée par $\frac{1}{500.000}$ de sublimé corrosif, $\frac{1}{8.000}$ de chlorure de platine, $\frac{1}{240}$ de sulfate de cuivre.

Tous ces chiffres sont intéressants et en même temps consolants, car ils font entrevoir la possibilité d'une lutte efficace contre l'envahissement de l'organisme par les végétaux inférieurs. Les bactéries pro-

prement dites, vivant dans le corps des animaux, ne sont malheureusement pas aussi sensibles aux antiseptiques que l'aspergillus, de sorte que jusqu'ici l'antisepsie purement médicale est encore à la période d'études.

Parmi les éléments du liquide de Raulin, certains ne sont pas assimilés par l'aspergillus, et cependant leur présence est indispensable, par exemple l'acide tartrique et le fer ; en effet, leur suppression fait diminuer considérablement le poids de la récolte de la mucédinée. Ils jouent là une action de présence, en constituant un milieu favorable au développement de la plante. Duclaux pense après Raulin, que le rôle physiologique du fer serait de détruire certaines substances sécrétées par l'aspergillus et qui, une fois en certaine quantité empêcheraient sa végétation, il ne serait là qu'une sorte de contre poison, agissant sur les produits d'excrétion de la plante, et empêchant une auto-intoxication.

L'acide tartrique n'aurait pour fonction que de maintenir l'acidité du liquide, et d'empêcher le développement des bactéries.

Substances azotées. — Comme toute cellule vivante, les bactéries ont besoin de substances azotées pour entretenir la constitution de leurs tissus ; elles les empruntent aux substances albuminoïdes, mais ces substances sont insolubles dans l'eau et par conséquent non dialysables ; pour devenir utiles et nutritives, il faut qu'elles soient liquéfiées et rendues solubles. Dans l'estomac des animaux supérieurs cette

fonction est dévolue au suc gastrique, et s'accomplit au moyen de la pepsine. Les bactéries procèdent de la même façon en sécrétant des corps connus sous le terme générique de *diastases* ; chaque bactérie sécrète une diastase particulière, certaines peuvent en fabriquer plusieurs successivement, suivant les besoins de l'évolution et de la nutrition de leur organisme ; ces diastases sont des corps non figurés, solubles dans l'eau, se rapprochant par leurs propriétés chimiques des matières albuminoïdes. On peut les isoler des cellules qui leur ont donné naissance, sans leur faire perdre leurs propriétés ; c'est ce fait qui avait fait faire une distinction entre les ferments animés et les ferments solubles, distinction stérile et inutile selon nous, car le fait général est le même et c'est toujours une cellule vivante, qui a été le point de départ de la fermentation. La seule division qui pourrait être adoptée serait la suivante : *fermentation directe* où la cellule agit par elle-même, *fermentation indirecte* où la cellule agit par les produits qu'elle a sécrétés, produits qui ne sont souvent destinés qu'à préparer en quelque sorte la fermentation directe. Le caractère spécial des diastases, c'est de pouvoir produire des réactions et dédoublements chimiques sans former elles-mêmes de combinaisons avec les éléments qu'elles ont mis en liberté et sans que leur action soit diminuée.

L'*amylase* transforme l'amidon en sucre, elle se trouve dans l'orge germée et peut rendre soluble mille fois son poids d'amidon.

La *sucrase* intervertit le sucre de canne et le transforme en glucose.

La *caséase* rend la caséine soluble dans l'eau et directement assimilable, peptonisée. Ces diastases sont les mêmes que celles qui sont sécrétées par les organes des animaux supérieurs (glandes salivaires-pancréas) et ainsi que le dit Duclaux, toujours et partout le même mécanisme est en jeu, et les mêmes diastases servent aux mêmes actions dans le monde des êtres supérieurs et dans celui des infiniment petits.

Conditions de température. — La végétation des bactéries n'est possible qu'entre certaines limites de température. Pour presque toutes les espèces ces limites sont comprises entre 30 et 40° C.

Certaines bactéries peuvent supporter, sans perdre la vie, des températures excessivement basses ; c'est ainsi que Frisch a vu le *bacillus anthracis* supporter une température de 110° au-dessous de zéro sans perdre ses facultés végétatives.

L'élévation de la température est beaucoup plus mal supportée ; en général les bactéries adultes sont tuées par une température de 60 à 80° prolongée quelque temps. Il n'en est pas de même des spores qui sont beaucoup plus résistantes. Pasteur avait déjà montré que beaucoup de germes résistaient à l'eau en ébullition ; Miquel a signalé un bacille du foin, dont les spores peuvent résister pendant 2 heures à une température de 105° à la pression de 2 atmosphères.

Action de la lumière. — La disproportion flagrante existant entre les corpuscules organisés de l'atmosphère et les germes capables de se revivifier fait

présumer que la lumière possède une action destructive énergique sur les bactéries. C'est en effet ce qui ressort des travaux d'Arloing, de Duclaux et de Strauss.

Arloing a montré que l'action de la lumière affaiblit peu à peu l'activité des cultures du *bacillus anthracis*, le transforme d'abord en vaccin, et finit par le tuer ; cette action est due surtout aux portions les plus réfrangibles du spectre, celles dont relèvent les actions chimiques.

La lumière met en jeu un phénomène d'oxydation, qui porte sur tous les éléments du microbe, mais spécialement sur les matières hydro-carbonées ; ce qu'il faut retenir, c'est l'action destructive exercée par la lumière solaire sur les bactéries.

Produits de sécrétion des bactéries — Ptomaïnes. — Comme toute cellule vivante, les bactéries fournissent une certaine quantité de déchets organiques, qui vont en s'accumulant dans les milieux nutritifs, et finissent par rendre impossible la vie de la cellule, si, par un procédé quelconque, on ne les enlève pas.

Parmi tous ces produits excrémentitiels, il en est un certain nombre, qui sont doués de propriétés alcaloïdiques et sont extrêmement vénéneux. Selmi avait retiré ces alcaloïdes des cadavres, Gautier les extrait d'abord des matières albuminoïdes en fermentation, et plus tard des cellules vivantes normales, montrant ainsi, que, aussi bien sur les cadavres que sur l'organisme vivant, elles sont un produit d'excrétion d'une cellule vivante.

Ces bases portent le nom général de ptomaïnes ; elles se comportent comme les alcaloïdes végétaux et présentent les réactions suivantes :

Acide phospho-molybdique, précipité jaune ; chlorure de platine, précipité jaune ou rosé ; chlorure d'or, précipité jaune cristallisé ; iodure de potassium ioduré, précipité brun kermès ; tannin, précipité blanc ; bichlorure de mercure, précipité épais blanchâtre. Quelques ptomaïnes ne précipitent pas par ce dernier reactif.

En 1822 Gaspard et en 1856 Panum avaient déjà démontré que les matières putréfiées contenaient un poison très violent. En 1868, Bergmann et Schmiedeberg retirèrent de la levûre de bière et du sang septicémique un corps cristallisé la *sepsine*. En 1873, Gautier en France et Selmi en Italie, démontrèrent la présence d'alcaloïdes vénéneux dans les produits de la putréfaction. Depuis, ces substances ont été étudiées par nombre d'auteurs et récemment surtout par Brieger, et cette année même (1887) par Gautier.

Brieger retire des cadavres humains les alcaloïdes suivants dans l'ordre de leur apparition :

Choline.	$C^5 H^{14} Az O$.
Neuridine.	$C^5 H^{14} Az^2$.
Cadavérine.	$C^5 H^{16} Az^2$.
Putrescine.	$C^4 H^{12} Az^2$.
Saprine.	$C^5 H^{16} Az^2$.
Triméthylamine.	$(C H^3)^3 Az$.
Mygdaléine	

Ces corps extraits par Brieger sont comme on le voit des produits cristallisés bien définis.

Injectées à des animaux, ces ptomaïnes donnent lieu à des troubles graves, dilatation ou contraction pupillaire, ralentissement et irrégularité du cœur, perte de la contractilité musculaire, des convulsions et la mort avec le cœur en systole. Ces corps sont d'autant plus toxiques qu'ils apparaissent plus tardivement sur le cadavre, c'est-à-dire que dans la liste donnée plus haut, les plus toxiques sont les derniers.

Toutes les bactéries ne produisent pas des ptomaïnes, c'est ainsi que depuis longtemps, Pasteur a pu injecter à des animaux des cultures filtrées de *bacillus anthracis* à dose élevée sans provoquer la moindre intoxication chez les sujets en expérience.

Nous retrouverons ces ptomaïnes lorsque nous étudierons le mécanisme de l'infection dans les maladies générales.

Matières colorantes.— Bactéries chromogènes.— Un certain nombre d'espèces bactériennes possèdent la propriété de sécréter des substances colorantes, qu'on peut extraire soit par l'eau, soit par l'alcool, suivant qu'elles sont solubles dans l'un ou l'autre de ces deux liquides.

Nous ne donnerons ici qu'une liste très succincte de ces bactéries qui appartiennent surtout aux micrococcus et aux bacilles.

Sarcina lutea. — Aérobie, sur agar-agar et en plates cultures colonies jaunes, légèrement grenues, liquéfie rapidement la gélatine, peut aussi se cultiver sur pommes de terre et dans du bouillon à 32°, se

rencontre dans l'air. Inoculé aux animaux, il ne produit pas d'accidents.

Staphylococcus pyogenes aureus (Rosenbach). — Se trouve dans le pus des furoncles, dans le pus des affections puerpérales, et dans l'ostéomyélite aiguë, liquéfie la gélatine; colonies jaunes sur l'agar-agar, les pommes de terre et le sérum. Injecté aux animaux, il les tue par septicémie. Aérobie (planche I).

Micrococcus pyocyaneus (Gessard). — Microbe du pus bleu, liquéfie la gélatine, sur pommes de terre forme une couche verdâtre, sur l'agar-agar, donne une couche blanchâtre, mais la substance nutritive restée transparente prend une belle teinte verte, aérobie.

Micrococcus prodigiosus (Cohn). — Se montre surtout sur les substances amylacées (pain, riz bouilli, amidon, colle de pâte), il forme les fameuses taches de sang sur les hosties, aérobie, forme des colonies rouge vif, se cultive sur l'agar-agar et les pommes de terre; liquéfie la gélatine (planches I et II).

Micrococcus indicus (Koch). — Couleur rouge plus claire que le prodigiosus; trouvé aux Indes dans l'estomac d'un singe; cultive sur agar-agar et pommes de terre.

Micrococcus aurantiacus (Schroter). — Colonies jaune orangé sur pommes de terre et le blanc d'œuf bouilli, pellicule jaune d'or sur les milieux liquides.

Micrococcus chlorinus (Cohn). — Colonies vert aunâtre sur les œufs et les solutions nutritives.

Micrococcus violaceus. — Taches bleu violacé sur pommes de terre.

Micrococcus luteus (Schroter). — Colonies jaunes sur les pommes de terre.

Micrococcus fulvus (Cohn). — Se voit sur le crottin de cheval en colonies couleur de rouille.

Micrococcus hæmatodes (Zopf). — Microbe de la sueur rouge, observé principalement dans la sueur de l'aisselle, cultive sur le blanc d'œuf bouilli.

Bacillus ruber (Franck). — Se trouve à l'état de taches rouges sur le riz bouilli.

Bacillus cyanogenus (Fuchs). — Bacille du lait bleu. Les cultures ont une couleur différente suivant le milieu : bleu ardoise dans le lait frais, bleu intense dans le lait acide; sur la gélatine, couleur brun grisâtre; sur l'agar-agar, couche blanche; le sol nutritif se colore en brun à sa partie supérieure; sur les pommes de terre, culture bleue.

Bacterium rubescens. — Bactérie couleur de pêche; se trouve à la surface de certains marais sous forme d'écume rouge rose, couleur de pêche mûre; se distingue très facilement du prodigiosus.

Staphylococcus pyogenes citreus. — Se distingue de l'aureus par sa couleur citron; cultive sur la gélatine et l'agar-agar. Inoculé aux lapins et aux cobayes, produit des abcès où l'on peut retrouver l'organisme.

De l'espèce chez les bactéries. — La distinction

de l'espèce dans le groupe des bactéries a donné et donne encore lieu à de nombreuses discussions, dont l'origine est sans doute dans une erreur d'observation assez commune dans le monde médical, il faut bien le reconnaître, de vouloir classer ces petits organismes d'après les caractères morphologiques de la bactérie elle-même ou de ses cultures. La véritable distinction scientifique d'une espèce réside dans l'ensemble des caractères évolutifs, c'est-à-dire dans l'ensemble des formes successives que prend un être aux différents stades de son développement complet.

Un certain nombre d'auteurs ont émis des doutes sur l'existence d'espèces distinctes chez les bactéries. D'après cette théorie, les différentes formes observées, ne sont qu'une série de variations vitales du même organisme, suivant les conditions du milieu; nous sommes là, on le voit, en plein transformisme, et si ce fait était démontré, on peut dire qu'il porterait un coup mortel à toutes les doctrines qui ne sont pas conformes à celle de l'*évolution*. Cette théorie a été surtout défendue par Billroth et par Naegeli et son école : quelque séduisante que soit cette manière de voir, elle n'a malheureusement pas pour elle la consécration des faits bien observés, et jusqu'à présent il faut admettre que le groupe des bactéries ne fait pas exception à la règle des autres groupes végétaux et peut être subdivisé en espèces distinctes. Certaines espèces sont cependant capables d'un certain degré de polymorphisme apparent et peuvent donner des formes dites d'*involution*; ce fait se retrouve par exemple dans le bacillus anthra-

cis, avec les espèces les plus naturelles cependant; mais ce ne sont pas là des formes réellement distinctes, ce sont simplement des formes dues à un vice de nutrition, à une sorte de monstruosité de la bactérie, car il suffit de rétablir les conditions nutritives ordinaires pour ramener toutes ces formes à la normale.

Les auteurs qui ont cru voir une bactérie se transformer en une autre, ont tous été victimes d'une erreur d'observation, due à l'introduction d'un germe étranger dans les cultures ; c'est à une erreur de ce genre qu'est due l'assertion de Büchner qui aurait vu le *bacillus subtilis* se transformer en *bacillus anthracis* et réciproquement. Ce n'est pas à dire que dans la longue série des siècles, les bactéries n'ont pas pu subir les transformations qu'on leur prête, mais jusqu'à présent, cette mutation de l'espèce ne s'est pas accomplie sous l'œil d'un observateur.

Agents chimiques de destruction des bactéries.— Les antiseptiques. — Un certain nombre de substances possèdent la propriété d'arrêter ou de retarder le développement des bactéries; quelques-unes les tuent. La connaissance exacte des propriétés de ces substances dites *antiseptiques*, est des plus importantes pour la pathologie et la chirurgie, qui par le moyen de leur emploi, peuvent arriver à lutter contre l'envahissement de l'organisme par les bactéries.

Nous donnons ici une liste de substances antiseptiques empruntée à la thèse de Miquel, et concernant surtout les bactéries atmosphériques, mais qui est

assez complète pour servir de base à l'antisepsie en général.

Doses minima de quelques antiseptiques capables de s'opposer à la putréfaction d'un litre de bouillon de bœuf neutralisé :

1° Substances éminemment antiseptiques :

Eau oxygénée.	0 gr.	05
Bichlorure de mercure.	0	07
Azotate d'argent.	0	08

2° Substances très fortement antiseptiques :

Iode.	0 gr.	25
Chlorure d'or.	0	25
Bichlorure de platine.	0	30
Acide cyanhydrique.	0	40
Brome	0	60
Sulfate de cuivre.	0	90

3° Substances fortement antiseptiques :

Cyanure de potassium.	1 gr.	20
Bichromate de potasse.	1	20
Gaz ammoniac	1	40
Chlorure d'aluminium.	1	40
Chloroforme	1	50
Chlorure de zinc.	1	90
Acide thymique.	2	00
Chlorure de plomb	2	00
Azotate de cobalt.	2	10
Sulfate de nickel.	2	50
Azotate d'urane.	2	80
Acide phénique.	3	20
Permanganate de potasse.	3	50

Azotate de plomb	3 gr.	60
Alun	4	50
Tannin	4	80

4° Substances modérément antiseptiques :

Bromhydrate de quinine	5 gr.	50
Acide arsénieux	6	00
Sulfate de strychnine	7	00
Acide borique	7	50
Arsénite de soude	9	00
Hydrate de chloral	9	30
Salicylate de soude	10	00
Sulfate de protoxyde de fer	11	00
Soude caustique	18	00

5° Substances faiblement antiseptiques :

Protochlorure de manganèse	25 gr.	00
Chlorure de calcium	40	00
Borate de soude	70	00
Chlorhydrate de morphine	75	00
Chlorure de strontium	85	00
Chlorure de lithium	90	00
Chlorure de baryum	95	00
Alcool	95	00

6° Substances très faiblement antiseptiques :

Chlorure d'ammonium	115 gr.	00
Arséniate de potasse	125	00
Iodure de potassium	150	00
Sel marin	165	00
Glycérine	225	00
Sulfate d'ammoniaque	250	00
Hyposulfite de soude	275	00

Atténuation des virus. — L'observation a depuis longtemps démontré, que pour la plupart des mala-

dies contagieuses, la non-récidive après une première atteinte était la règle.

Cette *immunité* avait reçu sa première application dans la pratique de la vaccination anti-variolique, due à Jenner; mais ce procédé de protection contre les maladies infectieuses ne pouvait se généraliser, fondé qu'il était sur l'empirisme. La connaissance du rôle pathogène des bactéries changea complètement la face de la question, et en s'engageant dans une voie réellement scientifique, les investigateurs ont pu créer des méthodes générales fondées, toutes sans exception, sur l'affaiblissemeut de la bactérie incriminée, au moyen des agents physiques ou chimiques (oxygène, chaleur, lumière).

Pasteur a montré l'influence de l'oxygène à propos du choléra des poules.

Pour le virus du sang de rate, c'est surtout à l'influence de la chaleur qu'on a recours. Arloing, Cornevin et Thomas ont eu également recours à elle pour atténuer le virus du charbon symptomatique.

Pasteur et Thuillier ont atténué le virus du rouget du porc, en le faisant passer par l'organisme d'un lapin.

Nous n'insistons pas ici sur ces méthodes, qui sont décrites aux chapitres spéciaux à chacune de ces maladies.

Il ne faudrait pas croire que l'action d'un virus atténué puisse se prolonger indéfiniment, et le court espace de temps, pendant lequel l'immunité est conférée, n'est nullement un argument contre la méthode. En effet, la vaccine protège environ de cinq à dix ans

contre la variole, et des revaccinations sont nécessaires pour une protection efficace ; l'immunité conférée pour les maladies des animaux (rouget, charbon, choléra des poules) ne dépasse pas une année, temps court, il est vrai, mais suffisant pour les besoins ordinaires de l'élevage.

On peut se demander quel est le mécanisme de cette immunité, et comment il se fait que l'introduction dans l'organisme de bactéries dont l'action pathogène a été artificiellement amoindrie, puisse protéger contre l'invasion de bactéries armées de toute leur virulence. Il est certain que les cellules de l'organisme doivent se conduire avec les bactéries comme avec les poisons chimiques. Pour ces derniers, en effet, une dose dont la quantité varie suivant les substances peut donner la mort; mais si l'on a pris soin d'habituer l'organisme au poison par l'ingestion de doses d'abord très faibles, puis progressivement croissantes, on peut arriver à faire absorber à l'individu ainsi accoutumé, on pourrait dire vacciné, des quantités de toxiques plus grandes que celle nécessaire pour le tuer, s'il n'avait pas éprouvé cette accoutumance graduelle. Le même fait se retrouve sans doute pour les bactéries ; si l'on injecte l'organisme pathogène à un individu non préparé, la lutte est impossible, la mort survient; mais par l'inoculation de la bactérie atténuée, les cellules du corps se sont habituées à la lutte et sont toutes préparées pour vaincre la bactérie virulente, lorsqu'elle viendra se présenter. C'est là l'hypothèse la plus plausible que l'on puisse faire sur l'action des virus atténués,

car la théorie de l'immunité fondée sur l'action d'un poison chimique sécrété par les bactéries et qui s'opposerait à l'invasion ultérieure de la même espèce est difficile à soutenir en présence de la rapidité de l'élimination accomplie dans les êtres vivants.

CHAPITRE III

ORIGINE DES BACTÉRIES — GÉNÉRATION SPONTANÉE

Les considérations botaniques développées dans le chapitre précédent, nous montrent qu'en résumé, les bactéries n'ont aucune différence essentielle qui les sépare des autres plantes ; il y a donc lieu de présumer que leur origine est la même que celle des végétaux en général, et qu'elles descendent d'êtres semblables à elles. Cette idée si simple, paraît de prime abord devoir être purement et simplement acceptée sans discussion, il n'en est rien cependant ; et il n'est peut-être pas de problème scientifique qui ait soulevé plus de controverses, plus de discussions ardentes et passionnées, parfois même acrimonieuses. D'où viennent les bactéries ? tel est le problème à résoudre. Cette question est naturellement liée à celle des générations spontanées, et nous ne saurions mieux faire pour l'étudier à fond, que d'exposer en détail l'historique des différentes phases par lesquelles elle a passé avant d'être complètement résolue par Pasteur, dont les idées sont presque universellement adoptées aujourd'hui. Si la lumière

a été longue à se faire, le résultat se trouve admirable, et l'on ne peut regretter les contradictions violentes dont le produit a été l'institution d'expériences rigoureuses destinées à demeurer les modèles du genre, et qui ont abouti, en somme, à rendre plus éclatante la conquête de la vérité.

Mais, avant d'aller plus loin, il importe d'exposer en quelques mots les doctrines qui ont été l'objet de ces ardentes discussions et de définir les termes qui ont servi à désigner les différentes écoles.

Les *homogénistes* pensaient que tout être provenait par descendance d'un être semblable à lui dans l'état adulte ; les bactéries ne faisaient pas exception à la règle, et, pour faire une bactérie, il faut une autre bactérie : on sait que, grâce aux travaux de Pasteur, c'est cette doctrine qui a triomphé.

Les *hétérogénistes* soutenaient, au contraire, que les bactéries pouvaient naître d'organismes ne leur ressemblant en rien; elles pouvaient aussi avoir pour origine des substances organiques sans structure cellulaire appréciable : c'est la *génération spontanée*. C'est ainsi que Ch. Robin, dans son *Traité du microscope*, représente la naissance du *bacillus amylobacter* par simple modification moléculaire de certaines cellules végétales en voie de décomposition.

L'hétérogénie a été défendue avec ardeur et talent par de nombreux savants, mais malgré les efforts de ses partisans elle a fini par succomber. La transformation d'une espèce en une autre n'ayant pu être encore scientifiquement constatée, pas plus que la

génération spontanée proprement dite, la diversité des explications possibles de l'hétérogénie a divisé ses partisans en différentes écoles, qui ont fourni des doctrines diverses pour étayer leur manière de voir, reposant toujours sur des expériences incomplètes ou mal conduites ; ces différentes explications seront étudiées plus loin.

Van Helmont indiquait encore au XVIIe siècle le moyen de faire naître spontanément des souris, des grenouilles, des anguilles, etc...

Ces grossières erreurs abandonnées, on se rejeta sur des êtres plus petits : on croyait que les larves de vers étaient engendrées spontanément par la viande en putréfaction. En 1668, Francesco Redi, médecin des grands-ducs de Toscane, ayant vu des mouches nombreuses se poser sur la viande, pensa qu'elles pouvaient être l'origine des larves et résolut d'éclaircir la question par l'expérience. Il plaça de la viande fraîche dans un vase dont il couvrit l'orifice avec du papier, et il trouva que dans ces conditions il n'y avait jamais de larves sur la viande. Au couvercle de papier il substitua une toile fine : les mouches y déposèrent leurs œufs, mais les mailles étant trop petites pour les laisser passer, aucune larve ne parut sur la viande, l'éclosion se fit au contraire sur la gaze. La lutte contre l'ignorance fut continuée par Vallisneri, Schwammerdam et Réaumur, qui réussirent à chasser de la science la notion de la génération spontanée, et cette doctrine perdit tout crédit dans la question de l'origine des êtres vivants d'un ordre élevé.

La découverte et les perfectionnements du microscope, en faisant connaître tout le monde des infiniment petits, remit tout en question et fournit un nouveau et vaste champ aux hypothèses des hétérogénistes.

En 1745, Needham publiait à Londres un ouvrage où il proclamait la réalité de la génération spontanée. L'ouvrage de l'auteur anglais eut un immense retentissement, grâce à l'appui de Buffon, dont il soutenait les idées. Needham remplissait avec une infusion organique un certain nombre de fioles qu'il fermait à la lampe ; il soumettait les vases ainsi hermétiquement clos à l'action de l'eau bouillante, puis les plaçait ensuite dans des conditions favorables au développement des organismes : bientôt la vie s'y déclarait par suite d'une *force végétative* inhérente aux *molécules organiques*.

En 1777, le célèbre abbé Lazaro Spallanzani publia des résultats contraires à ceux de Needham, en soumettant les mêmes infusions à une température de 100° pendant une heure au moins. Needham ne se tint pas pour battu et il dit que ce résultat était prévu et que Spallanzani, par la torture qu'il avait infligée à ses infusions pendant un temps si prolongé, avait anéanti la *force végétative*.

En 1836, Schulze fit passer sur ses infusions, de l'air purifié par son passage à travers l'acide sulfurique ou la potasse caustique, qui détruisaient les germes, et put ainsi obtenir des infusions stériles.

En 1837, Schwann proposa de détruire les germes

organiques vivants de l'air, en faisant passer ce dernier au travers d'un tube métallique fortement chauffé.

En 1854, Schrœder et Van Dush, eurent l'idée d'arrêter les poussières atmosphériques en filtrant l'air sur des tampons d'ouate, mais les résultats obtenus furent contradictoires.

La lumière, à cette époque, était encore loin d'être faite, lorsque Pouchet rouvrit devant l'Académie des sciences cette éternelle discussion. Pouchet avait abordé la question avec des idées préconçues bien arrêtées, et il ne chercha qu'à trouver des faits qui puissent démontrer la conception qu'il s'était faite *par la méditation*, procédé peu scientifique quoique bien philosophique.

En 1860, Pasteur intervint dans la discussion soulevée sur la génération spontanée, et il entreprit de résoudre définitivement le problème, bien qu'il en fût dissuadé par ses maîtres Biot et Dumas, qui n'entrevoyaient dans tout cela qu'un débat stérile : il ne suivit pas, heureusement, le conseil qui lui était donné et put, grâce à une série d'expériences admirablement conduites, réduire au néant la force végétative et toutes les hypothèses plus ou moins ingénieuses des partisans de la génération spontanée.

Reprenant les expériences précédemment faites des filtrations de l'air sur du coton ou de purifications par l'acide sulfurique, Pasteur s'attacha d'abord à démontrer que le résultat de ces opérations était toujours d'arrêter au passage, non pas des

matières inertes ou inconnues, mais des germes d'êtres organisés, qui, une fois arrivés dans un milieu convenable, pouvaient éclore et donner l'illusion de la génération spontanée. En montrant que c'étaient bien des germes de ferments ou de bactéries qui se trouvaient ainsi détruits, l'illustre savant fit faire un pas immense à la question. Nous ne pouvons ici que résumer succinctement ses admirables expériences, qui présentaient sur celles de ses devanciers l'avantage d'une telle précision, qu'elles furent immédiatement irréfutables.

1° *Récolte des poussières atmosphériques.* — M. Pasteur pratique dans une fenêtre à plusieurs mètres du sol une ouverture par laquelle passe un tube de verre contenant une petite bourre de coton




FIG. 42. — Spores atmosphériques recueillies directement par filtration de l'air (d'après Pasteur).

azotique. L'un des bouts du tube de verre est plongé dans l'atmosphère extérieure, l'autre communique avec une trompe à eau ou avec un aspirateur continu : il fait un courant d'air prolongé. Au bout d'un certain temps la bourre de coton est grise, salie par

les poussières qu'elle a arrêtées au passage ; elle est retirée et déposée dans un petit tube avec un mélange d'alcool et d'éther, où elle ne tarde pas à se dissoudre. On laisse reposer, et les poussières se rassemblent alors au fond du tube, où on les lave par décantation avec le même liquide. Après une évaporation complète, le résidu est délayé dans un peu d'eau et examiné au microscope (fig. 42).

2° *Preuve que ces particules sont bien des germes déterminant les fermentations et la génération dite spontanée.* Après avoir montré ces germes organisés au microscope, il fallait aller plus loin et démontrer que ces particules étaient bien la cause des altérations qu'on voit survenir dans les liquides organiques abandonnés à l'air. Voici comment s'y prit M. Pasteur :

Dans un ballon de 250 à 300 centimètres cubes, il introduit 100 à 150 centimètres cubes d'eau albumineuse sucrée ainsi formée :

Eau.	100
Sucre.	10
Matières albuminoïdes et minérales provenant de la levûre de bière.	0,7

L'expérience est disposée comme l'indique la fig. 43, le col du ballon communique avec un tube de platine, le tube de platine est chauffé au rouge dans une grille à gaz ; on fait bouillir le liquide pendant quelques minutes et on le laisse refroidir lentement et complètement. Il se remplit peu à peu d'air

ordinaire, mais dont toutes les parties ont été portées
au rouge en traversant le tube de platine. Une fois
l'opération terminée et le ballon refroidi on en ferme
le col au chalumeau. Le ballon est alors placé dans
une étuve à incubation à une température de 30°
il se conserve indéfiniment sans altération.

M. Pasteur fait la contre-épreuve de la manière su

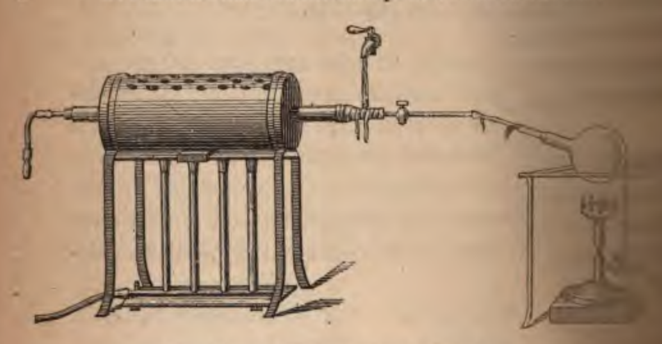


FIG. 43. — Première expérience de Pasteur.

vante : il remplit un autre ballon du même liqu
qu'on fait bouillir à l'air pendant le même tem
puis le ballon est exposé à l'air libre. Au bout
jour ou deux, le liquide est déjà en voie man
d'altération, il est rempli de bactéries et couve
moisissures.

M. Pasteur est encore allé plus loin dans cette
et par une dernière expérience est arrivé à rendre
démonstration aussi parfaite que possible. Il mo
ainsi qu'il suit sa première expérience (fig.
reprenant le ballon qui est placé depuis plusi

semaines à l'étuve et contenant l'eau sucrée albumineuse non altérée, il l'adapte de nouveau à l'appareil. Cette fois la pointe effilée du ballon s'engage dans un gros tube de verre de 10 à 12 millimètres de diamètre dans lequel est un tout petit tube contenant un peu de la bourre de fulmi-coton chargée de poussières atmosphériques. Entre le ballon et le tube de platine on intercale un tube en T muni de robinets. Des trois tubulures, l'une communique avec une trompe à vide ou une pompe pneumatique, la seconde avec le tube de platine rougi, la troisième avec le ballon par l'inter-

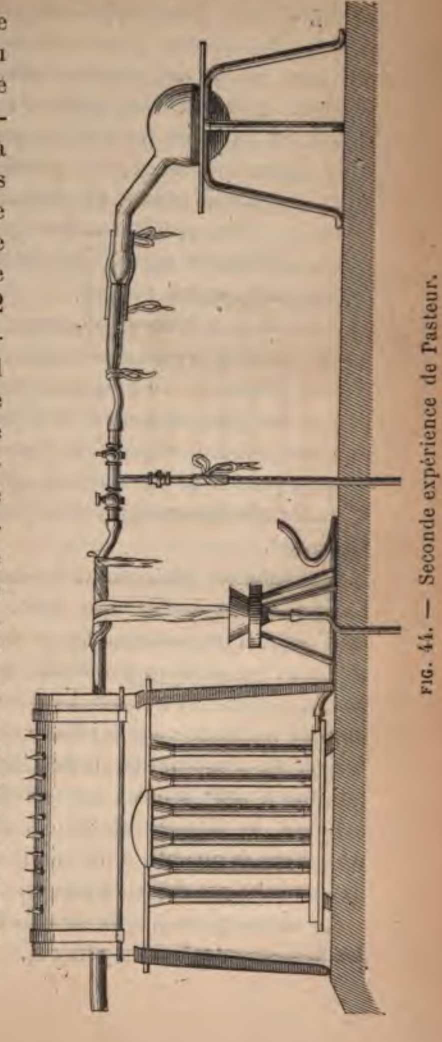


FIG. 41. — Seconde expérience de Pasteur.

médiaire du gros tube où se trouve la petite bourre de coton. Après avoir fermé le robinet du tube en T qui communique avec le tube de platine, on fait le vide, puis on rouvre la communication en laissant rentrer lentement l'air calciné : cette opération se répète plusieurs fois. On brise alors la pointe effilée du ballon à travers le caoutchouc et l'on y fait tomber la petite parcelle de coton souillée de germes. Le ballon est refermé à la lampe et reporté à l'étuve.

Voici ce que Pasteur observa : dans ces conditions des particules organisées commencent à se développer au bout de vingt-quatre heures, quarante-huit heures au plus, comme si le liquide putrescible avait été simplement exposé à l'air; les espèces qui se développent sont les mêmes que dans les liquides abandonnés librement à l'air (bactéries, mucédinées, vibrions).

Les mêmes phénomènes étaient observés dans l'urine acide bouillie à 100°. Ce dernier liquide fut l'objet d'un retour offensif des hétérogénistes. Le Dr Charlton Bastian prétendit, que l'urine stérilisée par la chaleur et neutralisée par la potasse pouvait donner naissance à une production spontanée de bactéries. M. Pasteur démontra sans peine que l'urine bouillie à 100° n'était nullement stérilisée, et qu'en rendant le liquide alcalin, on ne fait que créer un milieu favorable à la vie de certains organismes qui ne sont pas détruits par une chaleur de 100°.

Le même phénomène se produisait pour le lait et les milieux alcalins en général.

Pasteur pensa que cette différence dans les résultats tenait uniquement à ce que ces liquides contiennent des germes de bactéries qui résistent à une température de 100°. Pour le prouver, il fit bouillir du lait et de l'urine, non plus à 100°, mais à 110° sous pression et il constata que les ballons ainsi préparés et scellés au chalumeau pouvaient se conserver indéfiniment. Restait à trouver la cause de cette différence de résistance vitale : Pasteur démontra que, tandis que les bactéries adultes étaient tuées rapidement par une chaleur de 100°, les *spores* de ces mêmes bactéries résistaient à cette température. La découverte de ces spores et de leur résistance aux agents de destruction fut une véritable révolution ; elle fit tomber les dernières illusions des hétérogénistes, qui n'avaient plus dès lors une seule expérience à opposer à celles de Pasteur.

Les partisans de la génération spontanée émirent alors l'hypothèse que puisqu'il suffisait d'une très faible parcelle d'air pour amener la production d'organismes microscopiques, cet air devait en contenir une telle quantité qu'il en serait obscurci, ce qui est contraire à l'expérience. M. Tyndall avec son plateau des cent tubes, et M. Pasteur démontrèrent l'exagération de cette assertion; ils firent voir que l'atmosphère ne renfermait pas assez de bactéries pour pouvoir à coup sûr, et dans tous les cas, déterminer les générations dites spontanées : ainsi, en scellant à la lampe des ballons contenant des liquides de culture en pleine ébullition, et en cassant ultérieurement la pointe, il arrive souvent que la liqueur

reste intacte, comme si elle avait reçu de l'air calciné. Les expériences de Tyndall au glacier d'Aletsch et de Pasteur au Montanvert ont montré que l'air des montagnes était même presque indemne de germes de bactéries.

La dernière objection était la suivante : en traitant par la chaleur les liquides nutritifs, on tue leurs facultés génésiques : c'est encore M. Pasteur qui réfuta victorieusement cette objection : il institua une série d'expériences dans lesquelles il recevait dans un ballon vide et parfaitement stérilisé, du sang au moment où il sort de l'organisme et sans que ce liquide, si altérable, ait subi le contact de l'air; laissant ensuite rentrer dans le ballon de l'air calciné ou parfaitement filtré, et fermant à la lampe, on voit le sang se conserver indéfiniment inaltéré, bien qu'il n'ait été nullement chauffé.

Les dernières barrières qui faisaient obstacle à la réalité des faits étaient ainsi tombées devant les expériences de Pasteur; et dans l'état actuel de la science, on pouvait affirmer que la production de la génération spontanée était une illusion causée par une méthode expérimentale imparfaite. Cependant, au point de vue philosophique, l'idée de la génération spontanée est-elle absurde et chimérique? Est-il prouvé que depuis l'origine de la vie, aussi loin que notre imagination puisse remonter, les organismes inférieurs soient toujours nés d'un germe ou d'un œuf? Les expériences de Pasteur n'ont pas certainement une portée si élevée. Elles montrent seulement un fait, c'est l'excessive difficulté des recherches de ce

genre et l'impossibilité de produire expérimentalement la génération spontanée, avec les moyens dont nous disposons. Ces expériences ont rendu à la biologie d'inappréciables services en montrant à quelles causes multiples d'erreur on est exposé, et quelle circonspection l'on doit montrer dans cet ordre de choses pour énoncer une loi et un résultat.

La génération spontanée étant dans l'état actuel de la science impossible à démontrer, ses partisans ne pouvant plus la soutenir scientifiquement ont imaginé une série d'explications, qui ont naturellement toutes le grand tort d'être purement théoriques, pour ingénieuses qu'elles soient.

Théorie de Robin. — D'après cet auteur, s'il paraît démontré que la génération spontanée aux dépens d'éléments purement minéraux est impossible, il n'en est pas de même de la genèse au moyen de *blastèmes*. Une cellule ne descendrait pas fatalement, soit directement, soit par l'intermédiaire de germes ou de spores d'une cellule semblable : les éléments organiques jouiraient de la propriété de sécréter ou d'exsuder un liquide albuminoïde, le blastème, capable de s'organiser de lui-même.

Théorie de M. Béchamp. — Les microzymas. — Dans cette théorie, toutes les cellules organiques sont formées par un assemblage de petites particules, granulations élémentaires appelées microzymas. Ces microzymas s'agrègent les uns avec les autres par le moyen d'une sécrétion qu'ils produisent, les zymases,

origine du protoplasma. Dans l'organisme, si la sécrétion des zymases vient à se vicier, les microzymas s'agrègent d'une façon pathologique, en formant des microcoques, des bacilles, des bactéries de diverses formes. Au moment de la mort, ces microzymas ne périssent pas avec l'être qui les porte, ils se transforment en microbes, et deviennent les agents de la fermentation putride. Cette théorie, séduisante par elle-même, est malheureusement en contradiction avec nombre de faits bien observés.

Ces diverses théories, malgré l'autorité incontestable de leurs auteurs, n'ont pas fait fortune ; c'est qu'en effet, elles sont bien plutôt d'ingénieuses hypothèses, des vues de l'esprit, qu'une série de faits évidents : aussi nous en tiendrons-nous comme conclusion de cette étude aux idées que nous avons formulées plus haut ; jusqu'à nouvel ordre, l'homogénèse est la seule doctrine en conformité avec les faits.

CHAPITRE IV

MILIEUX ORGANIQUES OU L'ON TROUVE DES BACTÉRIES.

TUBE DIGESTIF. — SANG. — URINE

A. — Tube digestif. — Les bactéries trouvent dans toutes les parties du tube digestif un milieu très favorable à leur développement; aussi se présentent-elles dans toute sa longueur en nombre très considérable et sous les formes les plus variées. Mais malheureusement nous serons forcés d'être brefs, car une étude exacte et méthodique de toutes ces bactéries étant encore à faire, on ne peut encore les classer et en donner une description séparée. Nous nous contenterons d'exposer les quelques faits connus.

Microbes de la bouche. — La bouche est peuplée par un grand nombre de bactéries qui jouent certainement un rôle dans la digestion salivaire. Ces bactéries proviennent presque exclusivement de l'air inspiré qui dépose ses germes sur les parties humides où ils ne tardent pas à germer.

Un certain nombre d'auteurs attribuent la carie dentaire à ces bactéries. Miller pense que par suite

de la chute d'un petit fragment de l'émail, les acides produits dans les fermentations qui se passent dans la bouche peuvent ramollir la dentine, et qu'alors les bactéries peuvent pénétrer dans les canalicules et amener la carie de la dent; le même auteur a prouvé que les micro-organismes ne passent jamais dans les dents saines.

Miller a isolé et cultivé les bactéries des dents cariées et en a décrit cinq espèces, qu'il a désignées par les lettres grecques α, β, γ, δ, ε (fig. 45).



FIG. 45. — Bactéries de la bouche (dents cariées), d'après Miller.

La bactérie α est un coccus simple ou un diplococcus qui liquéfie la gélatine; cette bactérie opère dans la bouche la fermentation lactique.

La bactérie β forme des filaments et des bâtonnets; c'est la plus fréquente de la carie; elle est difficile à cultiver sur gélatine.

La bactérie γ est un coccus très petit qui liquéfie rapidement la gélatine.

La bactérie δ liquéfie aussi la gélatine, mais c'est un coccus beaucoup plus gros que γ.

La bactérie ε ressemble à de petits bacilles en virgule ; on n'a pu la cultiver sur la gélatine.

M. Vignal a repris ce travail et a fait une étude très complète des bactéries de la bouche. Nous donnons ici un très court résumé de ce travail en insistant surtout sur la technique.

Pour étudier les bactéries de la bouche, il faut autant que possible les récolter à l'état de pureté, et éviter les bactéries apportées par les aliments. On se rince les dents très soigneusement le soir en se couchant, et on recueille la salive, le tartre dentaire, l'enduit lingual le lendemain matin avant de prendre aucune parcelle de nourriture. On prend le tartre dentaire ou l'enduit lingual avec une aiguille de platine stérilisée, on délaye la semence recueillie dans un tube de bouillon stérilisé et avec ce liquide on ensemence les cultures.

Si on veut réussir, il ne faut pas faire, directement dans la gélatine, l'ensemencement avec l'aiguille chargée de tartre dentaire, mais délayer toujours auparavant dans un peu de bouillon stérilisé.

La gélatine doit être bien neutre ou légèrement alcaline et fortement peptonisée (2 p. 100). La gélatine étant inoculée, on la verse sur des plaques et on obtient un grand nombre de colonies, si l'on a eu soin de placer ces dernières à une température de 20 à 22° centigrades.

Une fois les microbes isolés sur les plaques, on procède à la confection de cultures pures par ensemencement sur l'agar-agar ou le sérum, dans la gélatine ou dans le bouillon.

Il faut rechercher les aérobies et les anaérobies. Par le moyen de cette technique, M. Vignal a isolé 17 bactéries différentes, 3 microcoques, 13 bacilles, 1 vibrion.



FIG. 46. — Bacillus subtilis.

1. Filaments et bactéries adultes. — 2. Bâtonnets en sporulation. — 3. Spores — 4. Germination des spores.

Parmi ces 17 microorganismes, 6 sont déjà connus, ce sont : le staphylococcus pyogenes albus, le staphylococcus pyogenes aureus, le leptothrix buccalis, le bactérium termo, qui ne se développe guère que dans un milieu acide et est rare dans la salive normale, le bacillus subtilis et le vibrio rugula (fig. 46 et 47).

Parmi ces 6 bactéries, une seule est spéciale à la bouche, c'est le leptothrix.

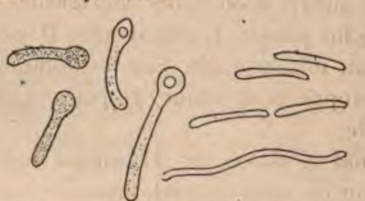


FIG. 47. — Vibrio rugula.

Le leptothrix buccalis (fig. 48) est la plus grande de toutes les bactéries du tube digestif ; il a de 1 à 20 μ de long et de 1 μ à 1 μ, 5 de large. Il a été décrit d'abord par Robin. Ce qui caractérise le

leptothrix, c'est la présence dans l'intérieur des filaments de cloisons transversales qu'on aperçoit surtout dans les préparations colorées. Il se cultive difficilement, et on ne peut guère l'obtenir à l'état de pureté, parce que les autres bactéries, en se développant plus vite, prennent le dessus et contra-



FIG. 48. — Leptothrix buccalis.

rient sa végétation. Il liquéfie la gélatine; sur l'agar-agar, il se cultive à 36 et 38° centigrades sous forme d'une couche plissée transparente. Il ne se cultive pas dans un milieu acide. Sur les pommes de terre, il se développe sous forme de petite tache blanche un peu sale.

M. Vignal a classé les 11 autres bactéries sans leur donner de nom spécial, mais en les désignant, à l'exemple d'Ehremberg et de Miller, par les premières lettres de l'alphabet (*a*, *b*, *c*, *d*, etc...) et, sauf la bactérie *a* qui paraît répondre au *d* de Miller, ce sont toutes des bacilles variant dans leur forme, leur volume et leurs propriétés.

Microbes de l'estomac. — En raison du milieu acide causé par la présence du suc gastrique, la plupart des bactéries ne peuvent végéter dans l'estomac. Il est probable qu'il n'en est pas de même dans les estomacs malades, mais nous ne savons rien de précis à cet égard. La sécrétion stomacale exerce sur un grand nombre de bactéries une action destructive, c'est ainsi que Koch a montré que les bacilles charbonneux adultes sont tués par elle et que seules, les spores peuvent résister à son action. Il y a cependant des espèces qui s'accommodent de ce milieu acide, et on trouve souvent dans l'estomac une agglomération zoogléique appelée *Sarcina Ventriculi* (fig. 30) : elle est composée de cellules arrondies réunies en masses et rangées en assises régulières formant des sortes de cubes agglutinés par une enveloppe gélatineuse. Ces masses cubiques proviennent certainement d'une cellule ronde qui s'est multipliée suivant trois directions perpendiculaires. Cette sarcine est toujours très abondante dans certaines maladies de l'estomac. C'est ainsi que certains auteurs affirment qu'elle est caractéristique des vomissements du cancer de l'estomac ; cette opinion est erronée, et on rencontre les sarcines dans toutes les gastrites chroniques.

Dans la panse de l'estomac des ruminants, on rencontre constamment le *bacillus amylobacter*, où il jouerait, d'après Van Tieghem, le rôle le plus important dans la digestion de la cellulose.

Microbes de l'intestin. — L'intestin et les selles sont peuplés d'un grand nombre de bactéries; mais,

malgré quelques recherches intéressantes, nous savons peu de chose sur les espèces qu'on y rencontre.

On emploiera pour isoler les espèces les procédés habituels de dilution et d'ensemencement des cultures (tubes et bouillons). Cette étude est à faire entièrement.

Les bactéries de l'intestin sont surtout des bacilles et des vibrions; on y trouve peu de micrococci.

B. — Sang. — Y a-t-il des bactéries dans le sang à l'état normal? Les avis sur ce point sont très partagés. La seule chose dont on soit sûr, c'est qu'à l'état normal le sang ne contient pas de bactéries adultes; mais contient-il des germes qui peuvent, à un moment donné, se fixer sur les organes et suivre les diverses phases de leur développement?

Pasteur s'est appliqué à recueillir le sang à l'abri de l'air ordinaire et de toute cause accidentelle de contamination. Après avoir soigneusement désinfecté la surface cutanée du cou d'un animal, un chien, par exemple, on dénude une grosse veine avec des instruments stérilisés. Avec un trocart, flambé au moment de s'en servir, on ponctionne la veine, et le sang est recueilli dans des matras stérilisés à haute température et contenant de l'air privé de toute particule organisée. On peut conserver indéfiniment ce sang à l'étuve sans qu'il s'altère ou qu'il montre trace d'un développement d'organismes bactériens. D'autres auteurs, au contraire, affirment que le sang charrie des germes inoffensifs et des germes de maladie dont

le développement à l'état normal est impossible, mais qui peuvent se mettre à végéter si les conditions de milieu viennent tant soit peu à se modifier. Nous touchons ici, on le voit, à une question brûlante en pathologie générale, la spontanéité des maladies infectieuses, question dont nous dirons quelques mots plus loin.

C. — Urine. — A l'état normal l'urine, prise dans la vessie, avec toutes les précautions nécessaires, ne contient pas de bactéries : dans les maladies infectieuses, leur apparition coïncide avec celle de l'albuminurie dont elles sont la cause en déterminant dans le rein des *néphrites* dites *infectieuses*.

Note de l'auteur. — Pendant que cet ouvrage était sous presse, il a paru dans les *Archives de physiologie* (fin 1887) un très intéressant travail de M. Viqual sur les microbes de l'intestin.

CHAPITRE V

LES BACTÉRIES DE L'EAU ET DU SOL

Les détails techniques dans lesquels nous entrerons à propos des bactéries de l'atmosphère, nous dispenseront de nous étendre outre mesure sur les bactéries de l'eau et du sol.

Les diverses eaux naturelles contiennent beaucoup plus de bactéries que l'atmosphère, et la raison en est simple : nous avons vu que la dessiccation, l'oxygène et la lumière agissaient de concert pour détruire les germes atmosphériques. Dans les eaux il n'en est pas de même ; en effet, la plupart des bactéries trouvent dans l'eau des conditions d'humidité et de nutrition très suffisantes. La température de l'eau empêche, il est vrai, beaucoup d'espèces de parcourir toutes les phases de leur développement, mais leurs germes sont protégés contre la mort et tout prêts à se développer lorsqu'ils auront trouvé un milieu thermique convenable.

Au niveau des sources, l'eau a subi une filtration parfaite dans le sol et les travaux de Pasteur ont montré, qu'à sa sortie de la terre l'eau était stérile et

indemne de bactéries; mais les germes apportés par l'air, par les eaux pluviales et les déchets organiques de toute espèce ne tardent pas à infester les sources les plus pures.

L'examen bactériologique des eaux demande une instrumentation beaucoup plus simple que l'examen des bactéries de l'atmosphère, et il n'est point besoin pour cette étude d'une installation spéciale.

La prise d'échantillon se fait de la façon suivante : on a stérilisé d'avance des petits flacons bouchés à l'émeri d'une contenance de 50 grammes environ. On en emporte plusieurs dans une boîte avec une lampe à alcool, et on se rend à l'endroit où on doit prendre l'eau. On prend un flacon, et avant de l'ouvrir, on passe rapidement le bouchon et le goulot dans la flamme de la lampe à alcool. On le trempe dans l'eau, on l'emplit, et, avant de le refermer, on flambe la partie du bouchon de verre qui entre dans le goulot; on ferme le flacon, on l'essuie et on flambe de nouveau le goulot et le flacon.

On prend ainsi un certain nombre d'échantillons avec les mêmes précautions.

Arrivé au laboratoire, il faut se livrer pour l'étude de cette eau à toute une série d'opérations diverses : examen direct, culture, triage des germes, numération, inoculations.

Lorsque l'on veut faire la numération des bactéries dans une eau naturelle, il est nécessaire que cette opération se fasse aussi vite que possible après la prise d'échantillon : en effet, pendant le voyage, des germes peuvent se développer qui adultéreront le

résultat ; aussi le transport jusqu'au laboratoire doit-il être effectué dans des conditions qui empêchent ces germes de pulluler. Le meilleur moyen, c'est le froid, et lorsque l'eau doit voyager plus d'une demi-heure, sa température ne doit jamais dépasser plus de 5° C. Dans ces conditions le nombre des bactéries de l'eau ne varie que dans des proportions extrêmement faibles qui ne peuvent pas troubler les résultats.

Il est nécessaire avant tout, de procéder à l'examen direct qui fera connaître les espèces existant normalement dans l'eau à l'état adulte ; pour cela, il suffira de préparer par la méthode ordinaire un certain nombre de lamelles colorées.

Une petite difficulté de l'examen par coloration directe, consiste dans la récolte des microbes, et voici comment on doit procéder pour les recueillir avec certitude : On place l'eau à examiner dans un verre conique à expériences, et on verse dedans quelques gouttes d'acide osmique en solution à 1 p. 100 (1 c. cube de solution osmique pour 30 à 40 c. cubes d'eau). L'acide osmique tue les bactéries sans les déformer, et elles se précipitent au fond du verre où il est facile d'aller les recueillir avec une petite pipette capillaire flambée.

Il faudra ajouter à ces préparations, l'étude de l'eau examinée en nature sans coloration; nous avons déjà insisté sur l'importance que nous attachons à l'examen des bactéries vivantes, seul moyen d'étudier avec fruit celles qui sont mobiles. On ajoutera à ces deux examens l'étude d'une goutte d'eau dans la chambre humide de Ranvier.

Pour faire des cultures, on ensemence avec une pipette stérilisée, des bouillons Pasteur, avec une aiguille de platine des tubes de gélatine et d'agar-agar.

L'étude de la nature qualitative des microbes de l'eau, se fait facilement par la méthode du triage des germes sur plaques de gélatine, qui permet en même temps d'isoler un certain nombre d'espèces; cependant certaines bactéries ne peuvent se développer sur les plaques de gélatine ou d'agar-agar. Il faut absolument, pour connaître toutes les espèces, avoir recours aux milieux liquides. Nous conseillerons pour cette étude deux procédés :

L'un consiste à ensemencer une série de matras Pasteur avec l'eau à étudier, et à faire avec ces cultures, plusieurs préparations tous les jours en ayant soin de rejeter chaque fois les matras qui auront été ouverts.

L'autre procédé est encore plus simple, il nécessite seulement une certaine quantité de l'eau en étude ; il consiste tout simplement à se servir de l'eau elle-même comme milieu de culture. On fait trois séries de cultures; on place la première dans l'étuve à 20°, la seconde à 30°, et la troisième entre 36° et 38°, et chaque jour on ouvre un flacon de ces trois ordres de cultures, dont on fait un certain nombre de préparations qu'on numérote, en indiquant soigneusement la température et le jour de la culture.

Ce procédé, d'une simplicité parfaite, est très recommandable et nous avons pu, en l'employant à l'analyse d'un certain nombre d'eaux naturelles, obte-

nir des collections complètes de toutes les bactéries qu'elles contenaient, et les étudier aussi bien qu'avec les méthodes les plus perfectionnées. Nous obtenions toujours ainsi un nombre de formes plus grand que par le triage sur plaques, et les espèces étaient toujours facilement distinguées.

Pour la numération, le procédé des plaques est également défectueux, car pour diverses raisons un grand nombre de germes échappent à la numération ; nous avons déjà dit que ce procédé doit être exclusivement réservé au *triage* et à l'étude *qualitative*.

L'étude quantitative ne peut se faire exactement que par le procédé employé par Miquel pour la numération des germes atmosphériques exposé plus loin. En deux mots, procéder à une dilution de très peu de l'eau à analyser dans une grande quantité d'eau stérilisée et répartir ce mélange dans un grand nombre de conserves placées à l'étuve et contenant du bouillon stérilisé. Ce procédé est coûteux, demande une grande installation, mais il est le seul véritablement scientifique, malgré ses imperfections. Pour doser l'eau introduite dans les cultures, M. Arloing se sert d'une pipette graduée, suffisamment mince et effilée à son extrémité pour que chaque goutte, exactement dosée, représente 1/200e ou même 1/400e de centimètre cube de liquide.

Si on a des raisons pour penser que l'eau analysée contient des organismes pathogènes, il sera bon de pratiquer des inoculations aux animaux, soit par injections sous-cutanées ou intra-veineuses,

soit par absorption digestive ou par tout autre procédé.

Les espèces microbiennes des eaux présentent une grande variété et dépendent on le conçoit, de l'origine et du degré de pureté des eaux employées.

Parmi les eaux potables, les eaux de puits situés au voisinage des habitations sont ordinairement les plus infestées de bactéries et les plus dangereuses au point de vue hygiénique.

Voici un tableau, emprunté à Miquel, qui donne les résultats statistiques obtenus par ce savant micrographe dans l'analyse des différentes eaux de Paris :

Provenance des eaux.	Nombre de microbes par litre.
Vapeur condensée de l'atmosphère.	900
Eau du drain d'Asnières..	48,000
Eau de pluie.	64,000
Eau de la Vanne (bassin de Montrouge). . .	248,000
Eau de la Seine (Bercy).	4,800,000
Eau de la Seine (Asnières).	12,000,000
Eau d'égout (puisée à Clichy).	80,000,000

L'analyse bactériologique du sol présente un très grand intérêt, eu égard aux organismes pathogènes qu'il contient habituellement.

Pour faire cette analyse, on prend un petit fragment de terre qu'on met à sécher dans l'étuve à 35 degrés ; on peut alors le garder quelque temps si on ne veut pas faire l'examen de suite.

On l'agite dans un peu d'eau stérilisée, et on ensemence des bouillons et des tubes d'essai par les procédés ordinaires.

La même méthode peut être appliquée à l'étude des poussières déposées sur le sol ou sur les objets de nos habitations.

La terre et les différents sols contiennent une quantité considérable de germes de bactéries.

CHAPITRE VI

LES BACTÉRIES DE L'ATMOSPHÈRE

Dans le chapitre où il a été traité des générations spontanées, nous avons montré que l'air atmosphérique était un des principaux véhicules des germes bactériens. L'étude de ces germes aériens sera donc de la plus haute importance pour le médecin, pour l'hygiéniste : d'où, la nécessité de se familiariser avec les méthodes spéciales à cet ordre de recherches micrographiques.

L'examen direct des poussières atmosphériques est facile, lorsqu'il s'agit des poussières minérales, des spores de champignons, tous corps relativement volumineux ; mais cette méthode devient très difficile, sinon impossible, en ce qui concerne les germes bactériens. Ces germes en effet sont d'une extrême petitesse, et l'observateur le plus attentif ne pourra souvent pas les distinguer des granulations quelconques inanimées ; celles-ci, en effet, sont souvent animées d'un rapide mouvement brownien, et d'ailleurs les germes de bactéries sont doués de la même immobilité que les poussières inertes, ne jouissant que des mouvements

communiqués. On devra donc renoncer à ce moyen d'investigation très fatigant et peu profitable pour l'étude. Miquel rejette également l'étude de l'eau provenant des rosées artificielles qui n'entraîne avec elle qu'un tout petit nombre de bactéries.

L'étude de l'eau de pluie donne des résultats intéressants sur la bactériologie atmosphérique, à condi-

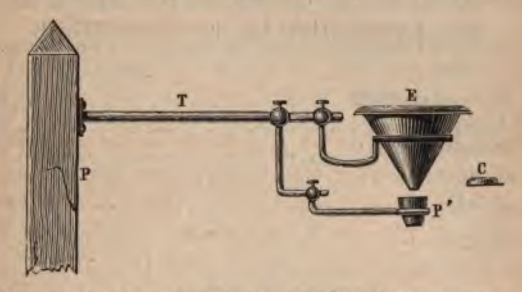


FIG. 49. — Udomètre de Miquel, employé à Montsouris pour recueillir les eaux météoriques destinées à l'examen bactériologique.

tion qu'on procède par les méthodes de culture, car l'examen direct en est aussi difficile que pour les poussières sèches. Voici l'appareil employé par Miquel pour recueillir les eaux météoriques destinées à l'étude microbiologique; il se compose d'une tige de fer T horizontale (fig. 49), solidement fixée à un poteau de bois planté en terre loin de tout arbre et de toute habitation. Cette tige reçoit, dès les premières gouttes de pluie, un petit entonnoir en cuivre nickelé (E) préalablement stérilisé. Au-dessous de cet entonnoir se place un creuset de platine qui a été porté au

rouge. Cette disposition permet d'enlever et de remettre facilement le creuset de platine et d'étudier la pluie au commencement, à la fin et pendant la durée de l'averse.

L'eau de pluie ainsi récoltée, est ensemencée dans du bouillon Liebig de densité 1,024, et la numération est opérée par le procédé indiqué plus loin. Voici d'ailleurs les chiffres statistiques obtenus par Miquel:

Dosages des bactéries de l'eau de pluie (moyennes mensuellées).

Mois.	Microbes par cent. cube.
Décembre 1880	16,4
Janvier 1881	6,3
Février —	12,4
Mars —	9,8
Avril —	11,0
Mai —	32,5
Juin —	23,0
Moyenne genérale	16,0

Malheureusement les bactéries de l'eau de pluie n'ont pas, à beaucoup près, la même composition que celles des poussières sèches de l'atmosphère, c'est donc celles-ci qu'on doit surtout étudier.

En recueillant les bactéries atmosphériques, on peut se proposer deux buts, ou bien les étudier au point de vue qualitatif, c'est-à-dire étudier les différentes variétés ou espèces bactériennes contenues dans l'air, ou bien procéder à des recherches statistiques et à une numération en règle.

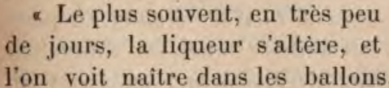
Recherches qualitatives. — La récolte des bactéries pour ces recherches a été d'abord faite par Pas-

teur par le procédé suivant, dont nous empruntons la description à l'auteur lui-même :

« Dans une série de ballons de 250 cent. de capacité, j'introduis la même liqueur putrescible : de l'eau albumineuse, de l'urine, etc., de manière qu'elle occupe le tiers environ du volume total (fig. 50). J'effile les cols à la lampe d'émailleur, puis je fais bouillir la liqueur et je ferme l'extrémité effilée pendant l'ébullition. Le vide se trouve fait dans les ballons; alors je brise leur pointe dans un lieu déterminé; l'air ordinaire s'y précipite avec violence, entraînant avec lui les poussières qu'il tient en suspension et tous les principes connus ou inconnus qui lui sont associés. Je referme alors immédiatement les ballons par un trait de flamme et je les transporte dans une étuve entre 25° et 30°, c'est-à-dire dans les meilleures conditions de température pour le développement des animalcules et des semences.



FIG. 50. — Ballon effilé de Pasteur.



« Le plus souvent, en très peu de jours, la liqueur s'altère, et l'on voit naître dans les ballons, bien qu'ils soient placés dans des conditions identiques, les êtres les plus variés, beaucoup plus variés même, surtout en ce qui regarde les mucédinées et les torulacées, que si les liqueurs avaient été exposées à l'air ordinaire. Mais, d'autre part, il arrive fréquemment,

plusieurs fois dans chaque série d'essais, que la liqueur reste absolument intacte, quelle que soit la durée de son exposition à l'étuve, comme si elle avait reçu de l'air calciné. »

Ce procédé peu précis a pu donner des résultats brillants entre les mains d'un expérimentateur aussi habile que M. Pasteur, mais on doit lui préférer de beaucoup la méthode employée par M. Miquel, méthode qui repose sur l'emploi du tube à boule (fig. 51) et dont l'auteur donne la description suivante.



FIG. 51. — Tube à boule de Miquel pour la récolte et la culture des bactéries atmosphériques.

Comme on le voit, cet appareil est formé d'une boule de 50 centim. cubes de capacité, soufflée dans l'axe d'un tube de verre dont l'extrémité inférieure est recourbée en S et la branche supérieure laissée rectiligne ou un peu cintrée, puis étranglée légèrement. Au-dessus et au-dessous de ce rétrécissement sont placés deux tampons d'amiante ou de coton de verre. L'appareil purgé de microbes est chargé de 20 centim. cubes environ d'une liqueur putrescible stérilisée, et enfin abandonné un mois à l'étuve. Si rien n'est venu altérer sa limpidité, si aucun dépôt n'est venu se rassembler au fond du vase, on le met

en expérience de la façon suivante : Le petit ballon rapidement flambé, est fixé au-dessus du sol au moyen d'une pince en fer, de façon que la branche *c d* fasse environ un angle de 25° avec l'horizon et que la pointe *a* regarde en haut. A l'extrémité libre *f* de l'appareil, on adapte un tube de caoutchouc communiquant avec une trompe ou un appareil aspirateur quelconque. La pointe *a* chauffée est alors brisée avec une pince brûlante; l'expérimentateur se retire à la distance de 10 à 20 mètres, et ouvre le robinet qui fait fonctionner l'aspirateur. La quantité d'air dirigée à travers le ballon, une fois passée, le robinet est fermé, puis l'expérimentateur se dirige vers l'appareil, scelle la pointe *a*, mouille la bourre *c* et projette cette bourre dans l'infusion en soufflant brusquement par l'extrémité ouverte *f*. Enfin, en inclinant l'instrument la pointe scellée en bas, il chasse par une série de petites secousses tout l'air de a branche en S qui se remplit de liquide jusqu'à l'extrémité de la pointe capillaire. Pas un germe n'échappe à l'infusion, à l'exception cependant de ceux qui ont pu s'arrêter à l'extrémité de la pointe *a* fondue à la fin de l'expérience. Ces manipulations extrêmement simples une fois terminées, le petit ballon est placé à l'étuve; son contenu s'altère ou ne s'altère pas, suivant que la quantité d'air aspiré est ou non chargée de microbes rajeunissables dans l'infusion. Le défaut de stabilité que paraît présenter cet instrument est compensé par le grand avantage qu'il a de rendre visibles les dépôts de micrococcus les plus faibles; ces dépôts, tendant, en effet, à gagner

naturellement le fond du vase, s'accumulent souvent en totalité dans la branche recourbée, où il est aisé de les recueillir pour les examiner, quand ils sont en très faible quantité ; il suffit pour cela d'enlever cette branche d'un trait de lime.

C'est dans ces cultures qu'on peut étudier les différentes formes de bactéries atmosphériques, elles appartiennent principalement aux genres micrococcus, bactérium, bacillus et vibrio. Les figures 54 à 57 représentent les formes les plus communes des bactéries atmosphériques.

Numération des bactéries. — Recherches quantitatives. — Nous avons vu que la numération directe des germes de bactéries était très difficile, sinon impossible, il faut donc se servir d'un procédé détourné. Nous allons exposer celui qui est employé par Miquel.

Tout d'abord, faisons remarquer que le tube à boule de Miquel convient pour la récolte des bactéries destinées à être comptées ; mais au lieu d'aspirer l'air en quelque sorte au hasard, cette aspiration doit être faite au moyen d'instruments enregistreurs, qui permettent de connaître exactement le volume de l'air qui a traversé le liquide nutritif. Ces instruments portent le nom d'aéroscopes ; nous ne pouvons dans cet ouvrage élémentaire les décrire avec détail, indiquons seulement que le plus commode est la petite trompe construite par la maison Alvergniat (fig. 52) qui fonctionne par entraînement de l'air sous la pression de quelques mètres d'eau. Entre la trompe et la conserve destinée à la culture,

on interpose un compteur analogue aux compteurs à gaz d'éclairage, aussi précis que possible. Ceci étant posé, voici les principes sur lesquels repose la numération des bactéries.

Supposons que dans le tube à boule on ait fait passer 150 litres d'air; si on répartit également le liquide ainsi contaminé dans 50 conserves de bouillon stérilisé, chaque conserve contiendra les bactéries de 3 litres d'air. Si on suppose que 9 conserves s'altèrent et que 41 restent indemnes, il est évident que 150 litres d'air contenaient *au moins* 9 germes c'est-à-dire 60 bactéries par mètre cube. Si on recommence l'expérience le lendemain, et qu'on ait 24 conserves altérées, l'impureté de l'air a presque triplé (160 bactéries par mètre cube), si le surlendemain on a 48 conserves altérées, on a au minimum 320 par mètre cube. Tel est le principe de la méthode, mais une difficulté se présente; le chiffre obtenu n'est qu'un minimum, et l'on n'est pas sûr de n'avoir introduit qu'une bactérie par conserve, ce qui serait évidemment l'idéal pour une numération



FIG. 52. — Trompe à eau servant d'aspirateur dans la numération des bactéries atmosphériques.

exacte. Dans la pratique, pour remédier à cet inconvénient, Miquel a notablement modifié son procédé. Tout d'abord, il insiste sur la nécessité de savoir approximativement le degré de pureté de l'atmosphère pour avoir une base; d'où, la nécessité de faire des recherches préliminaires pour s'édifier sur le nombre moyen des germes dans l'endroit où l'on travaille.

Ces données préliminaires une fois connues, on fait suivant les jours et les saisons, varier le volume de l'air employé, de façon à obtenir toujours le même nombre de ballons altérés; c'est-à-dire qu'il faut réréduire le poids des poussières ensemencées, pour obtenir l'altération d'un nombre presque égal de tubes à culture par des volumes d'air variables. D'autre part, il importe de réduire le plus possible le volume de l'air employé; ainsi dans l'expérience précédente, si on réduit de trois litres à un litre le volume d'air qui a servi à ensemencer chaque ballon, on n'aura que seize conserves altérées, ce qui donne également le chiffre de 320 bactéries par mètre cube d'air. Il est évident que moins il y a de tubes altérés plus on se rapproche du but, c'est-à-dire introduction dans chaque ballon d'un seul germe bactérien. Voyons maintenant les manipulations pratiques. Il n'y a rien de spécial à dire sur la stérilisation préalable des appareils et des bouillons, elle se fait par les procédés habituels décrits plus loin. Les infusions végétales, les liqueurs minérales, le bouillon Liebig, sont peu propres à la culture des bactéries atmosphériques, et il faut avoir recours au bouillon de bœuf dont

la préparation indiquée par Miquel est décrite page 245.

Une fois qu'on a procédé à l'ensemencement des conserves après la récolte des bactéries, on place les tubes à boule dans des rateliers spéciaux (fig. 53), et on place tous ces rateliers dans une vaste étuve chauffée entre 30 et 35°. Il faut les y laisser au moins

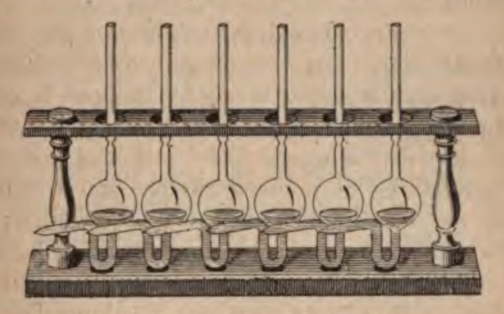


FIG. 53. — Ratelier de tubes à boule, disposés pour la numération des bactéries atmosphériques.

30 jours, terme de rigueur. A l'observatoire de Montsouris on procède à la numération le quarantième jour, le nombre des conserves qui s'altèrent après ce terme ne fait varier la statistique que d'un nombre infime.

Résultats statistiques. Nous avons dit plus haut que la composition bactérienne de l'eau de pluie et celle des poussières sèches étaient notablement différentes. Le tableau suivant emprunté à Miquel montre que dans l'eau météorique les bacilles dominent, tan-

dis que dans l'atmosphère, ce sont les micrococcus qui sont en grande abondance.

	Micrococcus.	Bacilles.	Bactéries.	Totaux.
Eau de pluie . . .	28	63	9	100
Air de Montsouris.	73	19	8	100

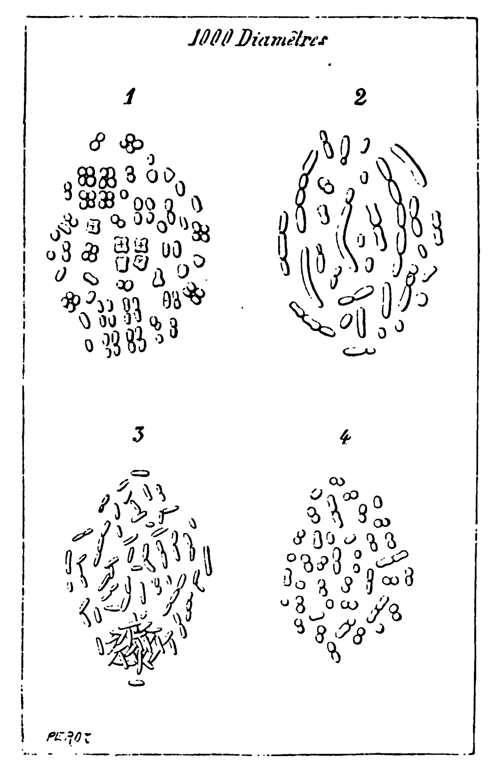


FIG. 54. — Diverses variétés de micrococcus atmosphériques a un grossissement de 1000 diamètres. (D'après Miquel.)

De toute façon, les bactériums sont les organismes les plus rares.

Les auteurs ne sont pas d'accord sur la façon dont les bactéries sont réparties dans l'atmosphère. Le professeur Tyndall pense que la répartition est inégale et que les germes atmosphériques sont conglomérés en véritables *nuages bactéridiques*, analogues à ces agglomérations de petits moucherons qu'on voit l'été sur les bords des rivières.

Miquel s'élève avec force contre cette conception, et pense au contraire que la répartition des microbes de l'atmosphère se fait d'une manière uniforme.

Influence des saisons et de la température. — Si on examine le tableau ci-dessous emprunté à Miquel, et qui représente une moyenne de plusieurs années, on voit que le chiffre des bactéries est peu élevé en hiver et qu'il est le plus grand en automne :

Mois.	Microbes par mètre cube.	Température.
Janvier.	48	2°,4
Février.	33	2°,5
Mars.	67	6°,4
Avril.	55	10°,0
Mai	105	14°,2
Juin.	51	17°,2
Juillet	95	18°,9
Août.	80	18°,5
Septembre	103	15°,7
Octobre.	170	11°,3
Novembre.	128	6°,5
Décembre.	50	3°,5

Mais cependant le nombre des bactéries ne suit pas une marche corrélative de la température. Il y a

d'autres conditions qui favorisent les variations de nombre des bactéries atmosphériques, dont les plus importantes sont la sécheresse et la pluie. Pendant les périodes pluvieuses, le chiffre des bactéries atmosphériques tombe à son minimum, tandis qu'il remonte au moment de la sécheresse ; cependant, cette marche ascendante de la proportion numérique des microbes ne se maintient pas, et si la sécheresse dure quelques semaines, le nombre des germes atmosphériques diminue rapidement, la dessiccation étant une cause active de destruction pour ces organismes si elle est prolongée.



FIG. 55. — Bacterium commun de l'atmosphère : grossissement de 1500 diamètres. (D'après Miquel.)

Influence de l'altitude. — Les expériences de Miquel dans les montagnes de la Suisse ont démontré que plus on s'élève, plus le nombre des bactéries atmosphériques va en décroissant. Ce fait avait déjà été montré en substance par les expériences de Pasteur au glacier des Bois et au Montanvert. Les recherches de Miquel à Paris même, rendent cette proposition évidente, et il suffit de jeter les yeux sur le tableau suivant pour voir avec quelle rapidité l'altitude fait décroître le nombre des bactéries atmosphériques :

	Bactéries par mètre cube.
Sommet du Panthéon.	28
Parc de Montsouris.	45
Mairie du IVe arrondissement.	462

Les expériences faites sur le sommet du Panthéon ont également démontré l'influence considérable des vents régnants :

Direction des vents.	Microbes au sommet du Panthéon.
Vent Nord-Est	64
— Sud-Est	43
— Sud-Ouest	26
— Nord-Ouest	50

Quand on est au Panthéon, les vents nord-est et nord-ouest sont ceux qui traversent les quartiers populeux de Montmartre, Belleville et la Villette ; les vents du sud et surtout du sud-ouest proviennent d'Auteuil, Passy, le bois de Boulogne, Fontenay ; ils sont les plus purs. Il est facile de se rendre compte ainsi que les vents les plus chargés de microbes sont ceux qui ont traversé les endroits les plus populeux, les moins chargés, ceux qui viennent directement de la campagne.

Bactéries des habitations et des hôpitaux. — Les considérations précédentes donnent à penser que le chiffre des bactéries deviendra énorme au milieu des endroits habités.

L'expérience a démontré la réalité de cette manière de voir et Miquel, a pu trouver dans une chambre de la rue Monge, où les conditions hygiéniques sont excellentes, jusqu'à 5,260 bactéries par mètre cube d'air.

Dans les hôpitaux, ces chiffres atteignent des pro-

portions considérables. et voici deux tableaux dressés par Miquel qui parlent avec éloquence :

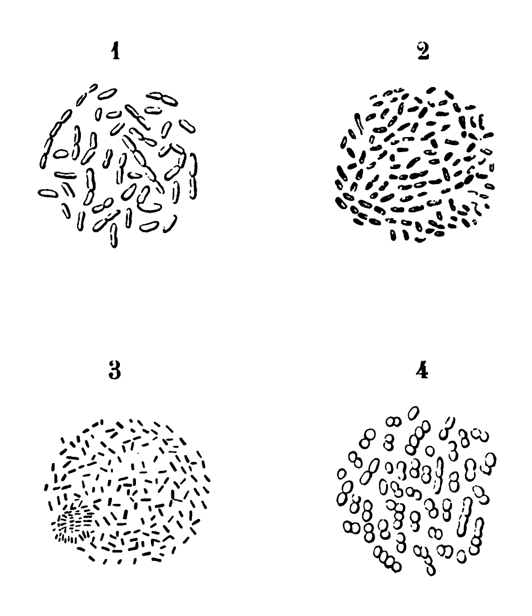


FIG. 56. — Diverses variétés de bactériums atmosphériques. 1000 diamètres. (D'après Miquel.)

Hôtel-Dieu, service de M. le professeur G. Sée (médecine).

Microbes recueillis par mètre cube d'air :

Année 1880.	Salle St-Christophe. (Hommes.)	Salle Ste-Jeanne. (Femmes.)
Juin.	5,850	5,200
Juillet	6,640	4,530
Août.	5,220	3,970
Septembre.	7,510	6,750
Moyenne.	6,300	5,120

Hôpital de la Pitié, service de M. le professeur Verneuil (chirurgie).

Bactéries récoltées par mètre cube d'air :

	Salle Michon. (Hommes.)	Salle Lisfranc. (Femmes.)	Au IVe arrond.
Mars 1881. . .	11,100	10,700	750
Avril.	10,000	10,200	970
Mai.	10,000	11,400	1,000
Juin.	4,500	5,700	1,540
Juillet.	5,800	7,000	1,400
Août.	5,540	6,600	960
Septembre 1881	10,500	8,400	990
Octobre	12.400	12,700	1,070
Novembre . . .	15,000	15,600	780
Décembre . . .	21,300	28,900	525
Janvier	16,100	12,800	160
Février.	14,400	11,100	200
Mars.	14,800	10,550	560
Avril.	11,120	7,560	850
Mai.	6,300	5,930	970
Moyennes générales	11,100		850

Voici maintenant un dernier tableau montrant la

composition botanique des différentes atmosphères dont nous venons de nous occuper.

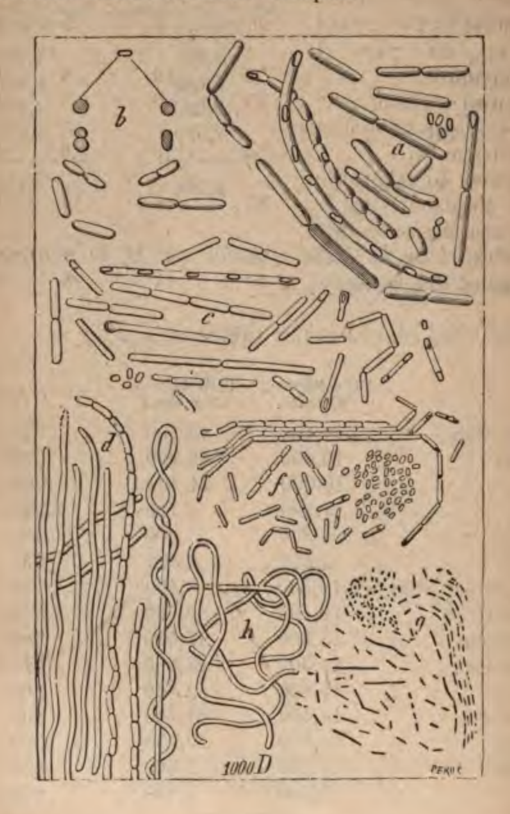


FIG. 57. — Bacilles atmosphériques : 1000 diamètres. (D'après Miquel.)

Nature des microbes recueillis :

Atmosphères considérées.	Micrococcus.	Bacilles.	Bactériums.	Totaux.
Air puisé au IV[e] arrond.	93	5	2	100
— du parc de Montsouris.	73	19	8	100
Air puisé des hôpitaux. .	89	9	5	100
— des habitations parisiennes.	84	10	6	100
Air puisé du laboratoire de Montsouris. . . .	81	16	3	100
Air puisé des salles inhabitées.	54	47	1	100
Air puisé des égouts. .	60	14	26	100

LIVRE TROISIÈME

TECHNIQUE BACTÉRIOLOGIQUE

CHAPITRE PREMIER

ÉTUDE GÉNÉRALE DES BACTÉRIES

Avant d'entrer dans tous les détails techniques dont la connaissance est nécessaire pour l'étude des bactéries, il convient d'en faire une étude générale ; par ces mots, nous voulons dire qu'au lieu de chercher à étudier à fond, tout d'abord, une ou plusieurs espèces bactériennes, on devra se livrer à des recherches préliminaires, pour lesquelles on s'abandonnera au hasard et prendre pour sujet d'étude les premières bactéries venues qu'il nous présentera. Avant de se lancer dans l'étude de la bactériologie appliquée, il est indispensable de commencer par se familiariser avec ces infiniment petits, de façon à bien se pénétrer des difficultés de cette étude, à connaître les aspects multiples sous lesquels ils se présentent, et éviter ainsi les conclusions hâtives qui font faire à la

science des pas en arrière au lieu de la faire progresser. Nous nous proposons dans ce chapitre, non pas de traiter les diverses méthodes d'étude applicables aux êtres dont nous parlons, ce sera là, l'œuvre des chapitres ultérieurs, mais d'indiquer à grands traits comment un individu qui n'a aucune idée des bactéries, peut, au moyen de procédés simples, arriver à se familiariser rapidement avec cette étude attrayante. Faute de suivre cette manière de procéder, on perd beaucoup de temps et les résultats obtenus ne répondent pas à la peine qu'on s'est donnée. Nous ne saurions trop conseiller aux débutants de suivre la méthode que nous proposons, car par ce moyen, on acquiert vite beaucoup d'idées générales et l'étude de la bactériologie, au lieu de se borner à un rôle de manœuvre, devient un plaisir, en se présentant pour ainsi dire sous un point de vue élevé et philosophique.

Il est généralement fort difficile d'obtenir, dans un milieu liquide quelconque, une seule espèce bactérienne, et ce résultat ne peut être atteint qu'à la suite de manipulations longues et délicates auxquelles un commençant ne peut avoir recours, il est donc inutile au début de tenter l'épreuve, et il faut se contenter des liquides dans lesquels un grand nombre de bactéries différentes vivent côte à côte, ou se succèdent : cette méthode d'étude a encore un autre avantage, elle permet de se rendre compte dans le même champ de microscope des différences morphologiques, quelquefois très faibles qui séparent deux espèces voisines.

La plus grande difficulté de l'étude des bactéries, réside certainement dans leur petitesse, aussi l'on ferait de mauvaise besogne en voulant les étudier sans être muni des instruments grossissants indispensables ; nous indiquons, au chapitre II, quels sont ces instruments.

Moyens de se procurer des bactéries. — L'atmosphère étant peuplée de spores de bactéries, il suffit, pour s'en procurer, d'exposer à l'air un liquide quelconque, capable de les nourrir, au bout de quelques jours, ce liquide en fourmille ; mais il est plus simple d'avoir recours à l'un des procédés suivants :

On prend des feuilles de salade, ou des rameaux verts de végétaux quelconques, et on les place dans un cristallisoir que l'on remplit avec de l'eau, de sorte que les parties végétales soient totalement immergées ; un simple bouquet de fleurs placé dans de l'eau qu'on ne renouvelle pas convient également. Petit à petit, les sucs végétaux se dissolvent dans l'eau, et les germes de bactéries qui étaient à la surface des feuilles, se mettent à se développer rapidement. On peut aussi faire bouillir dans de l'eau des petits pois et abandonner le liquide obtenu à l'air. Voilà certainement un moyen fort simple de créer des milieux liquides de culture. Pour fabriquer des milieux solides aussi simples que ceux dont nous venons de parler, on coupe des tranches de pommes de terre, de carottes ou de navets cuits, et on les place sur des verres de montre. On laisse les uns à l'air libre, et on met les autres sous une cloche après

avoir déposé à leur surface de toutes petites gouttes de liquides contenant déjà des bactéries. On peut aussi abandonner à l'air libre quelques verres de montre où l'on aura placé de la colle de pâte ordinaire. On pourra ainsi avoir, après quelques essais, des colonies de bactéries dites chromogènes. Au bout de deux ou trois jours, on verra se former à la surface des décoctions végétales, une petite pellicule grisâtre qu'on appelle la *fleur :* en délayant une toute petite parcelle de cette fleur dans un peu d'eau distillée, ou dans une goutte du liquide même de culture placée sur un porte-objet, on pourra commencer l'étude au microscope, après avoir recouvert la goutte avec une lamelle mince. Sur les tranches de légumes, on voit apparaître de petites masses gélatineuses blanches ou colorées; pour l'observation, on délaye de petites parcelles de cette gélatine dans une goutte d'eau qu'on recouvre ensuite d'une lamelle.

Avec ces préparations sommaires, on arrive à étudier presque toutes les formes de bactéries à l'état vivant. Les *micrococcus* sont une forme de bactérie formée de points très petits; ces points sont isolés ou deux par deux ou bien disposés en filaments analogues à des chapelets; les micrococcus ont la forme globuleuse ou ellipsoïde. Les bâtonnets courts sont des *bacterium*, ils sont souvent mobiles. Les bâtonnets plus longs sont les *bacillus*, ceux-ci sont souvent en longs filaments, ou bien ils sont composés de séries de bâtonnets placés bout à bout, séparés par une sorte d'articulation, qui peuvent se disjoindre et

constituer un des modes de leur multiplication. Si les filaments sont longs et très minces, on a les *leptothrix ;* s'ils sont ramifiés, les *cladothrix*. Les filaments épais et contournés en forme de spirale ou de ressort à boudin sont les *spirillum ;* ceux-ci sont fort mobiles et ils progressent dans les liquides par un mouvement d'hélice. Si le filament est au contraire simplement ondulé ou formé d'une hélice très allongée, on a le *vibrio*.

On voit souvent un grand nombre de ces bactéries réunies et agglomérées ensemble par une sorte de masse gélatineuse qui les empêche de se séparer ; cette masse a reçu le nom de *zooglœa*. Ce n'est pas là un genre particulier, et l'on peut trouver aussi bien des zooglées de microcoques, que des zooglées de bacilles.

Si maintenant, après avoir étudié les bactéries vivantes, on veut fixer le souvenir et les conserver ou les dessiner, on devra faire des préparations définitives; il faudra les colorer, employant pour cela le couleurs d'aniline en procédant comme il est indiqué au chapitre suivant. L'hématoxyline colore aussi la gélatine, de sorte qu'on devra s'en servir pour l'étude des zooglées.

Lorsque, par toutes ces études préliminaires, on s'est familiarisé avec l'étude morphologique des bactéries et avec leurs procédés de coloration, on devra aller plus loin et acquérir des notions plus étendues. Il importe maintenant d'étudier le mode de leur développement; il se fait de trois façons, soit par fractionnement des filaments, soit par bourgeonne-

ment, soit par spores. Cette étude peut se faire avec avantage au moyen de la petite chambre humide de Ranvier, dont nous avons donné une description complète à propos de la levure de bière. Ce procédé peut servir à deux fins : d'abord pour assister au bourgeonnement et à la bipartition des bactéries et ensuite à la formation des spores. C'est par ce procédé que R. Koch a découvert la sporulation de la bactéridie charbonneuse. En effet, on voit tout d'abord les filaments s'allonger ou se diviser, en se dirigeant principalement vers les bords de la goutte où abonde l'oxygène; puis, une fois que toutes les substances nutritives ont été consommées, on voit l'allongement ou la bipartition cesser petit à petit et dans les filaments, soit dans toute leur étendue, soit dans l'une de leurs extrémités, on voit apparaître des points brillants qui vont en grossissant, semblent absorber tout le protoplasma, et finissent par devenir libres dans le liquide, ce sont les *spores*.

Certaines bactéries produisent peu avant la formation des spores, soit dans tout leur corps, soit suivant des zones transversales, une substance analogue à l'amidon, qui se colore en bleu ou en violet au contact des solutions iodées. En examinant la fleur d'une infusion déjà vieille, on y voit souvent les bactéries former des spores.

Un autre procédé pour étudier les transformations successives des infusions au point de vue bactérien est le suivant : on prend de petits tubes à essais analogues à ceux qui sont usités pour l'examen des urines, on y met quelques centimètres cubes d'infu-

sion végétale, et, après avoir bouché les tubes avec un petit tampon de coton, on les place dans un lieu chaud (20° centigrades). Matin et soir, ou trois fois par jour on en distraira un qu'on examinera et avec lequel on pourra faire des préparations colorées définitives, on aura de la sorte toute une série de préparations témoins, sur lesquelles on pourra toujours facilement retrouver tous les détails voulus de structure, si on a eu soin de les numéroter et de les cataloguer.

On peut encore faire successivement des examens très instructifs de bactéries, et fabriquer des séries intéressantes de préparations, en prenant dans une mare, à la campagne, une certaine quantité d'eau croupie exempte de végétaux supérieurs ; on place cette eau dans un ballon, à une douce chaleur de 20 à 25° centigrades, en bouchant son col avec un tampon d'ouate, pour éviter la chute, dans son intérieur, des poussières de l'atmosphère ; on en fait matin et soir des préparations où l'on peut suivre pas à pas, pour ainsi dire, le développement de presque toutes les espèces bactériennes vulgaires.

Après qu'on se sera ainsi familiarisé avec ces microbes, alors qu'on les connaîtra, qu'on saura les distinguer dans toutes les phases de leur développement et les colorer, on pourra commencer à se livrer aux cultures et à l'isolement des espèces. Ici encore on devra procéder méthodiquement et commencer par les choses faciles.

Pour s'exercer, on pourra avoir recours au *bacillus subtilis*, qui existe en grande abondance

dans l'infusion de foin, et qu'il est facile d'isoler par des procédés élémentaires et de suivre ensuite dans toutes les phases de son évolution. Cette méthode est recommandée par Roberts et Büchner et aussi par Strassbürger, qui en donne la description suivante. On arrose du foin sec avec la quantité d'eau exactement nécessaire pour le mouiller, et on laisse l'infusion pendant quatre heures dans une étuve portée à une température constante de 36° centigrades. On retire l'extrait sans le filtrer, et on l'étend pour l'amener à la densité 1,004. On transvase ensuite le liquide dans un ballon d'environ 500 centimètres cubes. On bouche le ballon au moyen d'un tampon d'ouate et l'on fait bouillir le liquide pendant une heure en ayant soin que le dégagement de vapeur ne soit pas trop fort. On laisse redescendre la température que l'on arrête à 36° centigrades ; après un jour et demi, il s'est formé à la surface du liquide une pellicule grise, mince, qui se compose des zooglées du *bacillus subtilis*.

Ce procédé repose sur ce fait que les spores de ce bacille résistent facilement à une haute température, capable de tuer toutes les autres bactéries de l'infusion de foin. En la faisant bouillir, on a détruit tous les autres germes, sauf ceux du *bacillus subtilis* qui peut maintenant se cultiver seul, si l'on soustrait soigneusement l'infusion à tout danger de contamination par l'air.

Pour l'examen, on porte une partie de cette pellicule sur le porte-objet, et on l'examine avec les plus forts grossissements dont on dispose ; dans une goutte

du liquide nutritif, on peut déjà voir les bâtonnets cylindriques qui composent la zooglée, mais pour les mieux faire apparaître, on les colore avec la fuchsine ou le violet de méthyle, par l'un des procédés indiqués plus loin et on peut les conserver en préparations persistantes dans le baume du Canada. Avec un grossissement de 1000 diamètres, on peut voir la division des bâtonnets qui se répète d'heure en heure, si la température de la pièce où l'on observe est assez élevée ; on voit les bâtonnets s'allonger sans s'amincir, et, lorsqu'ils ont atteint une certaine dimension, on voit se former une cloison de séparation. On peut aussi, avec cette bactérie, voir la formation des spores ; pour cela, on place une parcelle de la pellicule dans une goutte d'eau suspendue à la paroi supérieure d'une petite chambre humide. Les substances nutritives de la goutte une fois épuisées, la bipartition cesse et bientôt commence la formation des spores : au bout de six ou huit heures, la sporulation est déjà très avancée. Si on continue la culture pendant quelques heures, les enveloppes des bâtonnets disparaissent et, au bout d'un jour, les spores, devenues libres, tombent à la partie inférieure de la goutte liquide. Les spores germent facilement, si on les place dans une solution fraîche à 30° centigrades ; le mieux est de les faire bouillir pendant deux ou trois minutes, et de les laisser se refroidir lentement ; dans ces conditions, on peut voir la germination se manifester après deux ou trois heures. Il faut environ douze heures pour que la bactérie nouvelle se divise pour la première fois.

Nous n'avons pas voulu ici, à proprement parler, indiquer de procédés techniques; ce chapitre a surtout pour but de tracer au commençant un programme à suivre pour s'habituer aux recherches bactériologiques. Nous ne saurions trop répéter quelle importance nous attachons à ces études préliminaires : par elles, en effet, on s'habituera petit à petit aux tours de main, aux procédés compliqués usités en microbiologie. En résumé, en étudiant d'abord ces bactéries vulgaires, on se familiarisera avec ces petits êtres, on les connaîtra sous toutes leurs formes, on apprendra à les distinguer d'autres corps qui pourraient avoir les mêmes réactions colorantes, mais qui n'ont rien de commun avec eux. Cette étude préalable passionnera certainement le commençant, et lui servira de base pour se livrer ensuite, avec fruit, à l'étude de la bactériologie proprement dite et à celle des microbes spécifiques; elle aura surtout pour effet de former le jugement en ces matières délicates, et d'éviter les conclusions prématurées qui sont l'apanage de ceux qui commencent par étudier les bactéries pathogènes avant d'avoir appris même à connaître les organismes dont ils parlent.

CHAPITRE II

TECHNIQUE HISTOLOGIQUE
DESSIN ET PHOTOGRAPHIE DES BACTÉRIES

1° INSTRUMENTS HISTOLOGIQUES

Il est absolument indispensable, pour quiconque veut se livrer avec fruit à l'étude de la microbiologie, de posséder des notions assez étendues sur la technique histologique générale. Le maniement du microscope, la confection des coupes et des préparations définitives, ne sont nulle part aussi difficiles qu'en bactériologie, et ce serait un contresens d'aborder un pareil sujet sans être familiarisé avec l'usage des objets usités habituellement en histologie. Il sera, de plus, nécessaire de connaître l'histologie normale et pathologique, tout au moins dans ses lignes générales, et, par ces mots, nous n'entendons pas seulement l'anatomie humaine, telle qu'elle est pratiquée dans les laboratoires fréquentés uniquement par des médecins ; il faut encore s'être consacré à l'histologie animale et végétale appliquée spécialement aux organismes inférieurs. L'étude des bactéries sera bien facilitée pour celui qui sera familiarisé avec l'étude technique

des infusoires et des végétaux inférieurs; des notions assez étendues de chimie sont également indispensables si on se livre aux recherches originales.

Nous supposerons donc connues de nos lecteurs ces notions et ces méthodes générales, nous contentant d'indiquer ici les ouvrages les plus recommandables sur ce sujet :

Ranvier. — *Traité technique d'histologie.*

Cornil et Ranvier. — *Manuel d'histologie pathologique.*

Frey. — *Traité d'histologie et d'histochimie.*

Strassbürger. — *Manuel technique d'anatomie végétale.*

Lee et Henneguy. — *Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique.*

Carl Vogt. — *Manuel d'anatomie comparée pratique.*

Microscope. — Le choix d'un bon microscope est toujours chose fort embarrassante; des conditions multiples, de prix, de réputation de fabricant, interviennent pour rendre difficile une bonne décision, et il est souvent préférable de ne pas acheter en bloc le microscope et tous ses accessoires chez le même fabricant.

Il faut posséder d'abord un bon statif, c'est-à-dire un pied, une monture solide à large platine; il doit être muni d'une excellente vis micrométrique et, autant que possible, d'un mouvement à crémaillère, (cette dernière disposition, sans être indispensable, rend de grands services); il faut que le miroir soit à

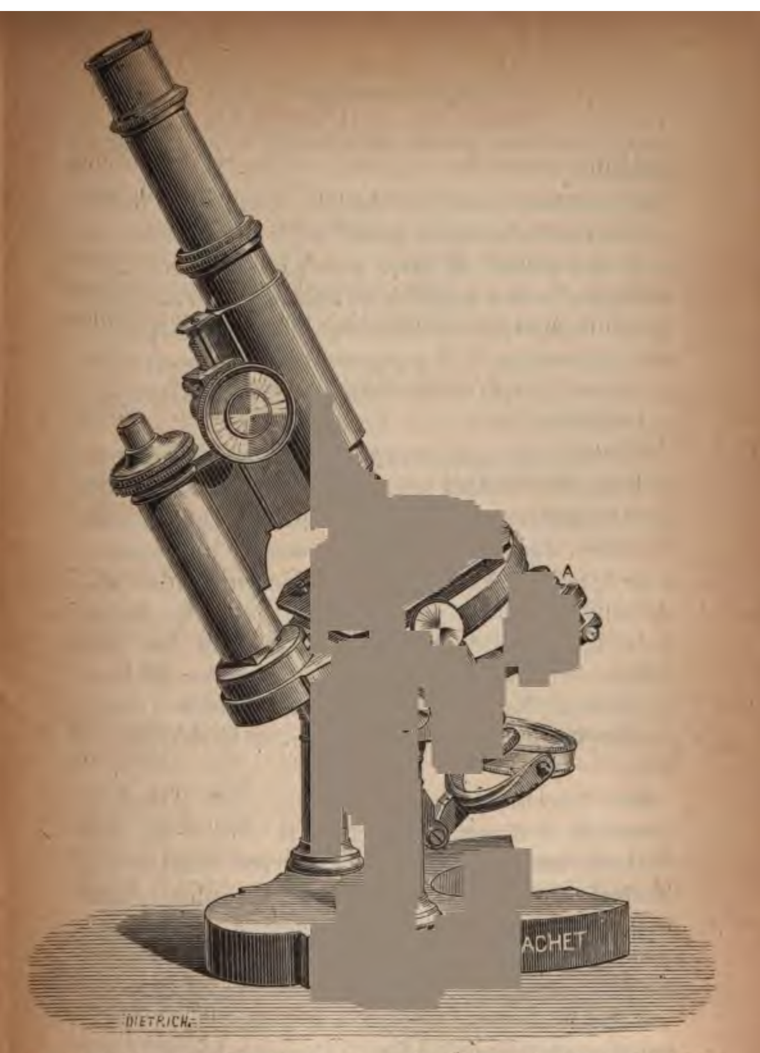


FIG. 58. — Grand modèle de microscope disposé pour les études bactériologiques : l'éclairage condensateur à grand angle A peut être introduit ou retiré à volonté. — La platine est à chariot, de sorte qu'on peut mouvoir la préparation dans tous les sens, sans y toucher, et aussi lentement qu'on le désire.

double face, une plane, une concave et le plus large possible.

Le pied sera construit de telle sorte, qu'il puisse recevoir un éclairage à grand angle d'ouverture, dit éclairage d'Abbé. Il devra porter un mouvement de charnière et être équilibré de telle façon qu'on puisse placer le tube horizontalement sans que la stabilité soit compromise ; ces dernières conditions sont indispensables si l'on veut s'adonner à la photographie des bactéries.

Tous les fabricants français et étrangers fabriquent de bons statifs ; nous repoussons cependant les statifs anglais, qui, malgré des qualités incontestables, sont, vu leurs dimensions, encombrants et incommodes pour le travail. Nous recommandons surtout les statifs dits « Modèle continental », pour les distinguer des modèles anglais. Les maisons les plus recommandables où l'on puisse se procurer de bons statifs sont : Nachet, Bézu-et-Hauser, Verick à Paris, Leitz à Wetzlar (dépôt chez Cogit à Paris), Zeiss à Iena.

Une fois en possession d'un bon pied, il faut se munir de systèmes d'objectifs : si l'on a eu soin d'acheter une monture dont le tube soit muni du pas de vis dit : *vis universelle*, on aura la plus grande liberté pour le choix des systèmes de lentilles, puisque, quelle que soit leur provenance, on pourra toujours les adapter au statif que l'on possède.

Il faut avoir deux objectifs à sec, dont l'un à faible grossissement pour étudier la topographie générale des lésions, et un plus fort pour pousser plus loin la

localisation des lésions bactériennes. Ces objectifs seront choisis de façon à pouvoir fournir avec les différents systèmes d'oculaires des séries de grossissements allant de 20 à 300 diamètres. On peut se servir pour cela des objectifs 3 et 7 de Vérick, 3 et 7 de Leitz, des systèmes D et E de Zeiss ou 2 et 7 de Bézu et Hauser, 2 et 7 de Nachet. Mais, si l'on veut déterminer exactement la morphologie d'une bactérie, il faut se munir de systèmes à immersion. Il existe des systèmes à immersion dans l'eau distillée ou dans divers liquides variables avec la nature de l'objectif employé ; tous deux peuvent rendre des services, mais les systèmes dits à immersion homogène peuvent en somme servir dans tous les cas, et si l'on n'en a qu'un, c'est à eux qu'on devra donner la préférence ; d'ailleurs, si les lentilles à immersion dans l'eau donnent de bons résultats pour les bactéries observées vivantes et non colorées, il est indispensable de se servir de l'immersion homogène lorsqu'on aura à étudier des bactéries colorées, libres ou sur des coupes d'organes.

Les objectifs à immersion homogène sont également fabriqués par un grand nombre d'opticiens. Nous recommandons pour les avoir essayés les systèmes suivants : le $\frac{1}{12}$ de Zeiss, le n° 10 de Verick, le $\frac{1}{16}$ de Leitz, le n° 9 de Nachet.

Ces objectifs peuvent, en variant le tirage du tube et les oculaires, donner des grossissements compris entre 300 et 1,000 diamètres.

Si l'on veut des grossissements supérieurs, on emploiera le n° 12 de Verick, le $\frac{1}{18}$ de Zeiss, le système 25

de Powel et Lealand, le n° 10 de Nachet; tous ces systèmes donnent de bons résultats et peuvent être également recommandés. Les objectifs de Zeiss jouissent actuellement d'une réputation méritée, mais cette maison est loin d'avoir le monopole des bons objectifs et nous pouvons trouver en France des systèmes à immersion homogène qui ne le cèdent en rien à ceux des meilleures maisons allemandes; c'est ainsi que récemment nous avons pu examiner le n° 10 de Nachet, qui, par sa clarté, par la perfection des images, se place à côté du $\frac{1}{18}$ de Zeiss et lui est même supérieur par quelques-unes de ses qualités. Cet objectif présente, en outre, l'avantage de ne pas être d'un prix exorbitant comme ceux de la maison allemande.

Les liquides employés avec ces lentilles sont ordinairement fournis par les fabricants, en même temps que l'objectif; ce sont généralement : l'huile de cèdre, l'huile de fenouil ou la glycérine associée au chloral.

L'usage des objectifs à immersion homogène rend absolument nécessaire celui de l'éclairage condensateur d'Abbé. Lorsqu'on examine les bactéries non colorées, ou bien à un faible grossissement, il faut, si l'on emploie l'appareil Abbé, le munir d'un diaphragme; mais avec des bactéries colorées et les objectifs à immersion homogène, on emploie, surtout pour les coupes, l'éclairage dans toute son intensité. Avec cet appareil, la préparation est placée au foyer du système; il en résulte que les objets peu colorés s'effacent et font en quelque sorte ressortir les bac-

téries, plus fortement imprégnées de matière colorante. L'éclairage Abbé présente sur bien d'autres



FIG. 59. — Éclairage condensateur d'Abbé.

condensateurs similaires l'avantage que, l'angle d'ouverture des rayons étant considérable (environ 120°), les contours réfringents des divers éléments cellulaires sont absolument effacés et ne peuvent masquer les plus fines bactéries. Plusieurs maisons fabriquent également l'appareil concentrateur Abbé;

ceux de Vérick permettent l'examen simultané des tissus et des bactéries, ceux de Zeiss et de Leitz peuvent également servir au même usage lorsqu'ils



FIG. 60. — Coupe de l'éclairage condensateur à grand angle, dit d'Abbé, pour montrer la disposition des lentilles et la marche des rayons lumineux.

sont convenablement diaphragmés ; ceux de Nachet sont commodes, d'un prix modique et répondent à tous les besoins. L'éclairage Abbé doit toujours être employé avec un miroir plan ; il doit être disposé de telle sorte, sous le pied, qu'il puisse s'enlever ou se remettre avec facilité, suivant les besoins de l'examen.

Instruments de métal. — Verrerie. — Pour confectionner les préparations, un certain nombre d'instruments indispensables doivent se trouver à la portée de l'observateur ; comme ils diffèrent un peu des instruments habituellement employés en histologie, nous en donnons ici l'énumération :

1° *Aiguilles.* — Il est nécessaire d'avoir trois sortes d'aiguilles, en acier, en platine, en verre. Les aiguilles en platine peuvent être disposées comme des aiguilles ordinaires à dissocier, c'est-à-dire emmanchées dans un manche de bois et terminées en pointe effilée ; mais il est plus commode de placer simplement au bout d'une baguette de verre, où on le colle par fusion du manche, un simple fil de platine un peu fort ; de cette façon, il peut servir à divers usages : comme simple aiguille, ou pour l'ensemencement des cultures sur la gélatine. Pour les préparations qui devront subir l'action des acides, il est bon d'avoir un certain nombre d'aiguilles de verre ; ces aiguilles se fabriquent en effilant avec soin des baguettes de verre analogues aux agitateurs. Ces aiguilles sont très commodes et on ne saurait trop en recommander l'usage ; ne s'altérant pas au contact des acides, elles sont toujours lisses, la pointe ne s'émousse pas, et elles n'adhèrent pas aux coupes, ne présentant aucune rugosité ; de plus, comme on les fabrique facilement soi-même, elles sont très bon marché, et si l'une d'elles se détériore, on peut la perdre sans regret.

2° *Spatules.* — Ce sont de petites palettes montées sur un manche en bois, ordinairement en métal inoxydable, le platine par conséquent, de préférence; elles servent au transport des coupes d'un liquide dans un autre ou sur les lames porte-objet.

3° *Ciseaux fins.*

4° *Pinces.* — Il en faut de plusieurs sortes ; on

choisit le modèle des pinces à disséquer ordinaires, mais avec des extrémités fines et dont les mors s'adaptent bien exactement. Les plus fines servent à tenir les lamelles pendant les préparations qu'on leur fait subir ; les grosses servent au transport des objets grossiers, tels que fragments de pièces à sortir de leur bocal ou à fixer dans le microtome.

5° *Godets de porcelaine.* — Ces godets sont très employés pour placer les pièces à colorer ; ils sont disposés de façon à pouvoir s'empiler les uns sur les autres, remplissant ainsi un double but ; ils tiennent moins de place et ils se servent de couvercle les uns aux autres, de telle sorte que les liquides qu'ils contiennent ne peuvent s'évaporer.

6° *Cristallisoirs en verre.* — On devra en posséder de toutes dimensions ; ils auront pour usage surtout le lavage des préparations, et devront être employés lorsqu'il sera nécessaire de faire baigner les pièces dans une quantité de liquide supérieure à celle qui peut être contenue dans un godet. On les choisira autant que possible rodés sur leur bord, de façon à pouvoir les couvrir facilement d'une lame de verre.

7° *Verres de montre.* — Il en faut de toutes dimensions, ils servent surtout aux colorations qui se font sur les lamelles couvre-objet.

8° *Lamelles couvre-objet.* — De 12 à 15 millièmes de millimètre d'épaisseur.

9° *Lames porte-objet.* — Ordinaires, creusées. Chambres humides de Ranvier.

Microtomes. — Les coupes de tissus contenant

des bactéries devront être aussi fines que possible, sans quoi ces petits organismes risqueraient de passer inaperçus, aussi doit-on renoncer aux coupes à main levée. On peut, avec les petits microtomes à main, arriver à faire des coupes suffisamment fines, mais elles seront forcément de faible dimension. Dès que l'on voudra pratiquer des coupes dépassant un centimètre carré, il faudra avoir recours aux grands modèles de microtomes mécaniques. Deux modèles sont généralement usités, celui de Thoma, construit par Jung de Heidelberg, et celui de Rivet, chez Vérick, à Paris. Il en existe beaucoup d'autres modèles, mais ils ne diffèrent pas sensiblement de ceux que nous venons de nommer; nous pouvons cependant citer celui de M. Malassez comme fort employé.

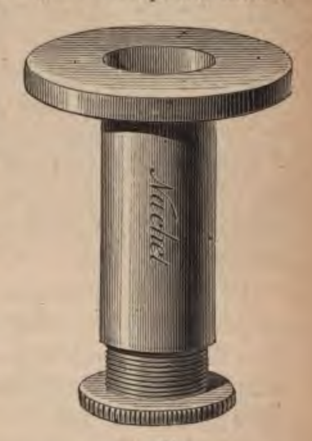


FIG. 61.
Petit microtome à main.

Pour fixer les pièces dans le petit microtome à main, on se sert de moelle de sureau décortiquée et comprimée qu'on fait ensuite gonfler par l'immersion dans l'alcool; ce procédé est courant en histologie, nous n'y insistons pas.

Pour l'usage des grands microtomes cités plus haut, on monte les pièces de la façon suivante : les

fragments de pièces bien durcis sont coupés en morceaux de la largeur qu'on veut, et de quatre ou cinq millimètres d'épaisseur, en faisant, autant que possible, les faces parallèles ; on les colle sur un bouchon ou sur un morceau de bois. Pour cela, on emploie la colle forte, la gomme arabique en solution épaisse ou la gélatine glycérine obtenue en dissolvant une partie de gélatine dans deux parties d'eau et en ajoutant deux parties de glycérine.

La pièce ainsi collée est placée pendant douze heures environ dans un bocal contenant de l'alcool ; celui-ci solidifie la gomme ; le support et le fragment ne font plus qu'un.

On fixe alors le bouchon dans l'étau du microtome, on place le rasoir, on l'humecte ainsi que la pièce avec de l'alcool, au moyen d'un pinceau, et on commence par faire une section nette. Il reste alors à faire monter la pièce à couper petit à petit, faisant aller et venir le rasoir au fur et à mesure ; cette ascension s'obtient dans le microtome de Thoma au moyen d'un chariot se mouvant sur un plan incliné ; dans celui de Rivet, au moyen d'une vis munie d'une roue dentée et d'un mécanisme de déclic. Les coupes sont recueillies avec un pinceau et portées dans l'alcool.

A ces deux microtomes on peut fixer un appareil spécial, permettant de durcir les pièces par congélation : ce procédé peut rendre des services si l'on veut pratiquer un examen rapide ; mais il a l'inconvénient de détruire en partie les tissus à examiner, et on ne devra s'en servir qu'exceptionnellement.

Il est possible cependant de tourner cette difficulté, et d'obtenir par congélation des coupes dans lesquelles les éléments seront suffisamment conservés. Pour y arriver, on place les pièces à couper pendant un jour ou deux dans l'alcool pour bien fixer les cellules dans leur forme ; on les fait ensuite dégorger pendant vingt-quatre heures dans l'eau. On peut alors pratiquer les coupes par congélation. Il est important de ne pas prolonger la désalcoolisation plus de vingt-quatre heures, car il se développerait dans la pièce des organismes inférieurs qui rendraient impossible une recherche bactériologique sérieuse.

2° CONFECTION DES PRÉPARATIONS HISTOLOGIQUES

La bonne confection des préparations de bactériologie ne s'acquiert qu'avec une longue habitude; mais il est certain que l'histologiste voit sa tâche singulièrement facilitée lorsqu'il a sous la main tous les éléments de travail nécessaires.

La préparation d'une piéce histologique comporte: le durcissement de la pièce, la confection des coupes, leur coloration et leur conservation. On est souvent embarrassé au début pour trouver les formules des réactifs appropriés; aussi, nous n'avons pas hésité à donner ici une longue liste de ces substances d'après divers auteurs; et, lorsque, au courant de cet ouvrage, on trouvera l'usage d'une substance colorante ou durcissante, sans indication spéciale, on n'aura qu'à se reporter à cette liste, que nous avons faite longue et complète à dessein.

Nous ferons suivre cette énumération de substances de la technique à employer pour les mettre en œuvre.

FORMULES DES RÉACTIFS HISTOLOGIQUES

A. Durcissement, montage et coupe des tissus :

Alcool absolu.
Alcool à 90°.
Essence de girofle.
Essence de bergamote.
Essence de térébenthine pure.
Créosote.

Celloïdine. — Cette substance se vend par plaques que l'on fait dissoudre pour l'usage dans un liquide formé de parties égales d'alcool et d'éther.

Glycérine gélatine. — Prendre parties égales de chaque, commencer par faire tremper la gélatine dans de l'eau distillée, jusqu'à ce qu'elle n'absorbe plus, jeter l'eau en excès et faire fondre à une douce chaleur ; une fois le mélange bien liquide, ajouter la glycérine et un peu d'une solution phéniquée forte pour empêcher le développement des moisissures.

Gomme en poudre. — On peut dissoudre dans de l'eau chaude au moment de s'en servir, et en faire ainsi rapidement, chaque fois, la quantité dont on a besoin.

Solution de Kleinenberg.— On place au fond d'un flacon des cristaux d'acide picrique en excès dans 100 grammes d'eau. Quand la solution est bien satu-

rée, on ajoute deux grammes d'acide sulfurique fort; on filtre et on verse le tout dans 300 grammes d'eau distillée.

Liquide de Müller :

Bichromate de potasse	2 gr.
Sulfate de soude	1
Eau	100

Acide osmique :

Eau distillée	100 gr.
Acide osmique	0 5

Paraffine.

B. Formules de solutions colorantes :

Aniline pure et blanche.

Brun de Bismarck.

Brun de Bismark	2 gr.
Alcool	15
Eau distillée	85

Éosine.

a. Solution alcoolique saturée.

b. Solution aqueuse.

Éosine	5 gr.
Eau distillée	100

Fuchsine[1].

a. Solution alcoolique saturée.

[1] Au lieu de fuchsine, on peut se servir de la variété dite fuchsine-rubine, dont la richesse colorante est plus grande et plus uniforme.

b. Solution aqueuse.

Fuchsine.	2 gr.
Alcool.	15
Eau distillée.	85

Violet de gentiane.

a. Solution alcoolique saturée.
b. Solution aqueuse.

Violet de gentiane.	2 gr. 25
Eau distillée.	100

Solution de Gibbes pour double coloration.

Prendre :

Chlorhydrate de rosaniline.	2 gr.
Bleu de méthylène.	1

Triturer dans un mortier de verre :

Dissoudre de l'huile d'aniline. . . .	3 gr.
Dans l'alcool rectifié.	15

Ajouter doucement au premier mélange, et enfin additionner lentement :

Eau distillée	15 gr.

Conserver dans un flacon à l'émeri.

Solution d'hématoxyline :

Hématoxyline.	2 gr.
Alcool	100
Eau distillée.	100
Glycérine	100
Alun.	2

Faire dissoudre, d'une part, l'hématoxyline dans

l'alcool ; d'autre part, l'alun dans la glycérine et l'eau, puis mélanger les deux solutions et filtrer.

Solution de Magenta :

Magenta	2 gr.
Aniline pure	3
Alcool	20
Eau	20

Bleu de méthylène.

a. Solution alcoolique concentrée.

b. Solution aqueuse.

Bleu de méthylène	2 gr.
Alcool	15
Eau distillée	85

c. Solution de Koch.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène	1 gr.
Solution de potasse à 10 p. 100	2
Eau distillée	200

d. Solution de Loëffler.

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène . . . . 30 c. c.

Solution de potasse à 1 p. 10,000 — 100 c. c.

Violet de méthyle.

a. Solution alcoolique concentrée.

b. Solution de Koch.

Eau d'aniline	100 gr.
Solution alcoolique de violet de méthyle	11
Alcool	10

Safranine.

a. Solution alcoolique concentrée.
b. Solution aqueuse à 1 p. 100.

Vésuvine.

a. Solution alcoolique saturée.
b. Solution aqueuse saturée.

C. Réactifs pour la conservation des préparations

Glycérine neutre.

Glycérine formique.

Glycérine pure.	100 gr.
Acide formique.	1

Xylol.

Baume de Canada. — Il faut en avoir de deux sortes : du baume sec et du baume dissous dans le xylol.

Durcissement des pièces.

L'examen histologique des bactéries se fait, soit au sein des liquides où elles vivent, soit dans l'épaisseur même des tissus, au milieu des lésions causées par leur présence et leur multiplication. Les méthodes d'examen des liquides seront exposées plus loin, et, dans ce paragraphe, nous nous occuperons surtout de la préparation préalable que doivent subir les tissus où l'on se propose de rechercher les bactéries.

Il est fort peu de tissus animaux qui soient susceptibles d'être débités en coupes suffisamment fines sans avoir subi un durcissement préalable ; le cartilage est seul dans ce cas, et encore est-il qu'on a rarement à y faire des recherches bactériennes. Les

os, au contraire, sont trop durs et on doit les priver de leurs matières calcaires pour qu'ils puissent se sectionner facilement par le rasoir.

Il est de toute évidence que l'on devra prendre les organes aussi frais que possible : si l'on fait des recherches sur les animaux, ce sera facile ; on pourra, ou bien sacrifier l'animal, ou bien prendre les pièces immédiatement après la mort.

Chez l'homme, la loi civile s'opposant à ce qu'on touche à un cadavre avant un laps de temps de vingt-quatre heures, on ne peut espérer, sauf certains cas exceptionnels, sur lesquels nous ne pouvons insister, avoir des pièces toutes fraîches, exception faite pour les pièces provenant d'opérations chirurgicales pratiquées dans un but curatif. On devra, en tout cas, recueillir les fragments à examiner aussitôt que possible, car la putréfaction amène rapidement la diffusion des bactéries dans les cadavres ; il est juste d'ajouter que, dans beaucoup de cas, la situation topographique des micro-organismes pathogènes suffira pour les distinguer des autres.

On a préparé à l'avance, avant l'autopsie, les réactifs dont on veut se servir, et on y place les pièces immédiatement après qu'elles sont sorties du corps. Les objets qui seront placés dans l'alcool seront débités de deux façons différentes ; si l'on se propose de faire les coupes avec un microtome à main, on taille des petits cubes ayant au plus un centimètre de côté. Comme l'alcool décolore les tissus, on pourrait plus tard ne plus trouver la lésion qu'on veut étudier ; aussi, pour se rappeler la face sur

laquelle on pratiquera les coupes, il est bon d'y enfoncer une petite épingle qui servira de témoin et qu'on enlèvera au moment de monter la pièce. Si l'on a un microtome Thoma ou Rivet, on peut avoir des coupes plus larges et on taille alors des fragments plus grands, mais n'ayant pas plus de 4 à 5 millimètres d'épaisseur ; ces fragments seront ensuite collés sur des bouchons, ainsi qu'il a été indiqué plus haut.

Les pièces seront placées de préférence dans l'alcool absolu ; à son défaut, on peut aussi employer l'alcool à 90°, qui donne des résultats aussi satisfaisants. Comme les pièces ont une tendance à gagner le fond du vase, l'alcool de la partie inférieure est vite dilué dans l'eau et bientôt hors d'usage. Il est donc utile de le changer plusieurs fois pour obtenir un bon durcissement, et, de plus, il faut s'efforcer de maintenir les fragments dans les parties superficielles du liquide ; pour ce faire, plusieurs procédés sont en usage : un des plus commodes consiste à remplir les deux tiers du flacon avec de l'ouate ordinaire, à placer les pièces dessus et à les recouvrir avec l'alcool ; de cette façon, elles seront toujours en contact avec la partie la plus riche en alcool.

Un certain nombre de pièces peuvent être durcies uniquement par ce procédé; d'autres au contraire ne devront passer par l'alcool que pour fixer les éléments anatomiques, elles seront ensuite traitées par les méthodes d'inclusion ou par la congélation ; c'est le cas pour le poumon, par exemple, qui ne pourrait jamais durcir par l'alcool seul.

Une fois les pièces durcies, on pourra les laisser dans l'alcool, en changeant le liquide de temps en temps ; on ne peut cependant les conserver indéfiniment, car à la longue les bactéries perdent le pouvoir de se colorer par les réactifs.

Si l'on se propose de traiter les fragments par l'acide osmique, on devra couper les morceaux beaucoup plus petits (5 millimètres au plus de côté) : il sera possible cependant d'obtenir des préparations plus larges, en mettant les pièces dans l'alcool au tiers pendant vingt-quatre heures, laissant dégorger quelques heures, et ensuite dans la solution d'acide osmique. De toute facon, il sera préférable d'employer des solutions très faibles d'acide osmique et d'en mettre une grande quantité (30 fois au moins le volume de la pièce). De cette façon, la pénétration du réactif se fait plus uniformément et plus régulièrement. Lorsque les pièces sont restées pendant vingt-quatre heures dans l'acide osmique, on les met dégorger dans l'eau pendant une heure et on achève le durcissement dans l'alcool. La méthode de fixation de Flemming consiste à mélanger l'acide osmique avec l'acide chromique ; par exemple, on prend 0,02 d'acide osmique, 0,25 d'acide chromique, 0,04 d'acide acétique et 68 parties d'eau distillée ; on y laisse les petits morceaux pendant un ou plusieurs jours et on achève par l'alcool.

Toute pièce qui a passé dans l'acide osmique ne doit jamais être durcie par la gomme ; mais si, par l'alcool seul, on n'obtient pas un durcissement suffisant, on peut placer les fragments pendant douze

heures dans un mélange à parties égales de gomme sirupeuse et de glycérine, puis dans l'alcool. Ce procédé ne doit être que fort peu employé, car il est presque impossible d'avoir des solutions de gomme exemptes de bactéries.

Méthodes d'inclusions. — Il existe un certain nombre de méthodes d'inclusions des pièces à couper : on peut faire des masses au savon, à la gélatine, à la cire, à la gomme ; nous renvoyons le lecteur aux traités techniques d'histologie, pour la description détaillée de ces divers procédés qui peuvent rendre des services, et nous décrirons seulement les deux suivants, qui sont les plus usités en histologie bactériologique :

Celloïdine. — Cette méthode est due à M. Duval. La celloïdine n'est autre qu'un collodion très pur, qui présente l'avantage d'être livré sous forme de plaques solides qu'on peut dissoudre en diverses proportions dans un mélange d'éther et d'alcool, à parties égales. La celloïdine présente l'avantage qu'on peut monter les coupes dans la glycérine ou dans le baume *sans enlever la masse*, qui demeure transparente et invisible. Elle a cependant certains inconvénients : si les coupes qu'on peut faire par ce procédé sont très larges, elles ne sont jamais d'une très grande finesse ; le maximum de finesse qu'on puisse obtenir est 10 μ, tandis qu'avec la paraffine on peut obtenir 1 μ. De plus, d'après Cornil, la celloïdine simule par places l'existence de la matière hyaline et gène par sa présence la coloration des bactéries.

Pour arriver à de bons résultats, il faut procéder de la façon suivante : on commence par déshydrater les objets par l'alcool absolu, puis on les transporte dans une solution très faible de celloïdine ; une fois qu'ils sont bien pénétrés, on les place dans une solution plus forte. Une fois la pénétration terminée, on fait l'inclusion définitive dans des boîtes de papier de la façon suivante : on entoure l'extrémité d'un bouchon (fig. 62) d'une collerette de papier débordant de la hauteur voulue, dont on fait plusieurs tours et qu'on fixe avec une épingle. On met un peu de collodion sur le bouchon, puis on place la pièce qu'on recouvre avec la masse d'inclusion. On place ensuite le tout dans l'alcool faible qui solidifie la celloïdine peu à peu. Une fois le durcissement accompli, on enlève le papier, et on peut monter la pièce dans l'étau du microtome. On peut aussi se servir de l'appareil représenté fig. 63, qui se compose de deux équerres en métal qu'on peut faire glisser de manière à créer une cavité de la dimension voulue.

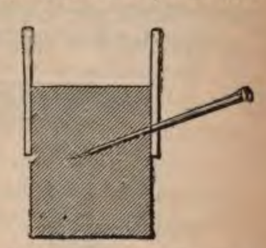


FIG. 62. — Bouchon entouré d'une collerette de papier pour les inclusions.

Paraffine chloroformée. — Cette méthode est recommandée par Cornil, elle donne d'excellents résultats, et offre l'avantage d'être très facile à mettre en œuvre. Les pièces durcies par l'alcool absolu sont placées dans la paraffine dissoute par le chloro-

forme ; l'excès de chloroforme s'évapore et il reste une masse demi-solide qui se conserve plusieurs semaines. On peut alors fixer la pièce sur un bouchon et y faire des coupes suivant la méthode ordinaire, ou bien elle est placée dans de petites boîtes de papier qu'on remplit de paraffine ; le bloc solidifié est monté

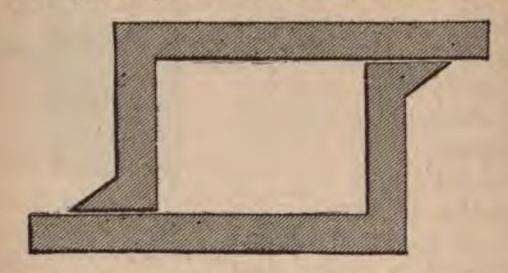


FIG. 63. — Petit appareil composé de deux équerres en métal pour les inclusions. (On peut faire varier à volonté les dimensions intérieures.)

directement dans le microtome. Les coupes seront placées d'abord dans l'essence de térébenthine, puis dans l'alcool absolu, et ensuite dans les bains colorants.

Les pièces à durcir peuvent être aussi fixées par la liqueur de Müller, puis placées dans l'alcool après avoir dégorgé dans l'eau. Les os et les dents seront d'abord décalcifiés, soit dans une solution concentrée d'acide picrique, soit dans la solution de Kleinenberg.

3° PROCÉDÉS GÉNÉRAUX DE COLORATION

Examen des liquides. — Il est de la dernière importance, avant de faire des préparations définitives,

d'étudier les bactéries dans les milieux mêmes où elles vivent ; cet examen fournit des renseignements importants sur la forme réelle, sur les mouvements de ces micro-organismes, ainsi que sur leur répartition au sein des liquides. Pour examiner les liquides frais, tels que le pus, le sang, les sucs, les bouillons de culture, on en prend une goutte avec une pipette capillaire, on la dépose sur une lame porte-objet, et on recouvre d'une lamelle bien propre ; si on se propose de prolonger l'examen un peu longtemps, on placera sur le bord du couvre-objet une goutte d'eau stérilisée. Pour l'examen des bactéries développées sur les milieux de culture solides, on en prendra une parcelle avec une aiguille stérilisée, on la délayera dans l'eau et on procédera comme ci-dessus.

On peut aussi par une méthode assez simple arriver à étudier les bactéries vivantes et colorées ; après avoir déposé la goutte de liquide contenant les bactéries sur la lame porte-objet, on y ajoute un peu de solution aqueuse faible de violet de méthyle, on mélange les deux liquides avec une aiguille stérilisée et on met le couvre-objet.

De cette façon, les bactéries se teintent peu à peu, et on peut ainsi les étudier vivantes et apprécier leurs dimensions réelles, n'ayant pas eu à subir les rétractions inévitables par l'action de la dessiccation, de la chaleur ou de l'alcool. Cette étude peut être poussée assez loin et on peut en voir se développer et se reproduire malgré la coloration ; certaines espèces résistent très peu à l'action des couleurs d'aniline et sont tuées au bout de quelques instants.

Pour étudier les bactéries dans les préparations définitives, il faut les fixer et les colorer pour toujours. Dans ce but, on étale les liquides à la surface de minces lamelles couvre-objet. Pour étaler les liquides visqueux comme les crachats, on les écrase entre deux lamelles qu'on sépare ensuite ; pour les liquides ordinaires, on en dépose simplement une goutte sur la lamelle où on l'étend sur toute la surface avec une aiguille stérilisée. On laisse sécher *spontanément* les lamelles à l'air libre, puis on les passe trois fois sans précipitation dans la flamme d'un bec à gaz de Bunsen pour coaguler les substances albumineuses.

Pour faire subir aux lamelles l'action de la substance colorante, on les place dans des verres de montre, la face à colorer en dessous et on y verse la couleur de telle sorte que les lamelles nagent à la surface du liquide. On les y laisse un temps variable, suivant l'espèce de bactéries qu'on recherche. Au sortir du bain colorant, les lamelles sont traitées différemment suivant le procédé employé, mais, en fin de compte, on les fera déshydrater, sécher et monter dans le baume de Canada dissous dans le xylol.

Pour monter ces lamelles au baume, on peut commencer par les éclaircir avec une goutte d'essence de girofle ou mieux d'essence de bergamote ou de créosote ; cette opération est ordinairement inutile si les lamelles sont bien privées d'humidité ; puis on place une goutte de baume sur la lame et par-dessus, on pose la lamelle, la face colorée en contact avec le baume ; celui-ci s'étale peu à peu, et la préparation est terminée.

Il faudra ensuite la laisser à plat pendant quelques semaines en attendant que les dissolvants du baume s'évaporent, sans quoi les préparations seraient perdues ou tout au moins détériorées. Il faut éviter de se servir de baume dissous dans le chloroforme qui a l'inconvénient de décolorer rapidement les bactéries.

Coupes de tissus. — Les coupes récemment confectionnées, sont transportées au moyen d'une aiguille dans les bains colorants; elles demandent, pour être colorées suffisamment, un temps bien plus long que les lamelles, et le contact est ordinairement maintenu pendant vingt-quatre heures. Elles sont alors transportées dans un cristallisoir rempli d'eau distillée où elles sont soigneusement lavées, puis dans l'alcool pour les décolorer, en partie. Enfin on les place sur les lames porte-objet et quand elles commencent à sécher, on y met quelques gouttes de créosote, d'essence de girofle ou de bergamote; et lorsque l'éclaircissement est complet, on y laisse tomber une goutte de baume au xylol, après avoir absorbé l'excès de liquide éclaircissant avec un petit bout de papier-filtre et on recouvre avec une lamelle bien propre. Lorsqu'il s'agit de bactéries vulgaires, ou lorsqu'elles sont en grand nombre, le bain colorant le plus simple est formé de solutions concentrées alcooliques de violet de méthyle ou de fuchsine. Mais, lorsqu'il s'agit de recherches délicates, il est bon d'avoir recours aux méthodes plus perfectionnées que nous allons maintenant exposer.

On peut par ces méthodes arriver, soit à colorer

seules les bactéries, le fond de la préparation demeurant incolore (simple coloration); soit à teinter les tissus et les bactéries avec des couleurs différentes, de telle sorte que les micro-organismes se distinguent du fond par une coloration différente (double coloration).

MÉTHODES DE SIMPLE COLORATION

Méthode de Gram. — On prépare une solution d'aniline dans l'eau :

Aniline pure.	1 gr.
Eau distillée.	24

On agite fortement et on filtre. On dissout alors un demi-gramme de bon violet de gentiane, finement pulvérisé, dans cette solution, et on filtre de nouveau avant de s'en servir.

Les coupes sont introduites dans cette solution pendant un temps variable, de quelques minutes à une heure : elles sont lavées rapidement et introduites dans une solution d'iodure de potassium iodé (Gram), composée ainsi qu'il suit :

Iode métallique.	1 gr.
Iodure de potassium.	2
Eau distillée.	300

On les y laisse jusqu'à ce qu'elles deviennent brun foncé, puis on les décolore par l'alcool absolu. Le temps nécessaire pour la décoloration complète dans l'alcool varie de quelques minutes à vingt-quatre heures. A ce moment, on les éclaircit au moyen de

l'essence de girofle et on monte dans le baume de Canada.

Cette manière de procéder a été modifiée de la façon suivante par Crookshank, qui estime qu'il vaut mieux se servir d'une solution tout à fait fraîche.

Placer 4 ou 5 gouttes d'aniline pure dans un tube d'essai, emplir celui-ci jusqu'aux trois quarts avec de l'eau distillée, fermer l'orifice du tube avec le pouce et agiter convenablement. Filtrer l'émulsion deux fois et verser le produit filtré dans un verre de montre ou dans une capsule de verre. A l'eau d'aniline parfaitement claire que l'on obtient ainsi, ajouter goutte à goutte une solution alcoolique concentrée de violet de gentiane, jusqu'à ce qu'un commencement de précipité se manifeste. Laisser les coupes dans cette solution colorante, depuis dix minutes jusqu'à une demi-heure, les porter dans la solution d'iodure de potassium iodé et décolorer par l'alcool.

Sur les préparations faites par ces deux méthodes, on voit le tissu incolore ou faiblement coloré en jaune, tandis que les bactéries sont bleues ou violet noir.

On peut aussi obtenir, par ce procédé, des doubles colorations. (Voir plus loin, p. 202.)

Méthode d'Erlich. — Excellente méthode, qui a été vulgarisée surtout dans l'étude des bacilles de la tuberculose, et dont on a d'ailleurs exagéré à ce propos la valeur analytique. Elle repose sur ce fait que certains micro-organismes, en particulier les bacilles de Koch, résistent à l'action de l'acide nitrique dilué,

une fois qu'ils ont été colorés dans des solutions de couleurs d'aniline rendues alcalines, tandis que les tissus ambiants et les corps qui les accompagnent sont rapidement décolorés dans les mêmes conditions.

La solution colorante d'Erlich se prépare de la façon suivante :

A. *Solution aqueuse d'aniline.* — Comme milieu alcalin, on se sert d'huile d'aniline pure et blanche. (D'après Cornil et Babès, on peut aussi employer les toluidine, orthotoluidine et paratoluidine.) On fait chauffer 100 grammes d'eau distillée à laquelle on ajoute 10 grammes d'huile d'aniline. On secoue vivement ce mélange pendant quelques minutes : le liquide devient trouble, lactescent; on le laisse reposer quelques heures, et on filtre soigneusement sur un filtre mouillé; on a alors une solution incolore et limpide.

B. *Solution alcoolique saturée de matière colorante.* — On prend environ 50 grammes d'alcool absolu ou d'alcool à 90°, on y laisse tomber du violet de méthyle 5 B ou de la fuchsine en cristaux en grand excès, c'est-à-dire de telle sorte qu'après avoir bien agité, il en reste au fond du flacon non dissous. On laisse reposer et on décante; il est inutile de filtrer.

C. *Solution définitive.* — On prend 100 centimètres cubes de la solution A et on y ajoute 10 cen-

timètres cubes de la solution B, on les mélange bien et on filtre pour l'usage.

Telle quelle, cette solution d'Erlich peut se conserver pendant une quinzaine de jours; au bout de ce temps, elle est à peu près hors d'usage ; aussi est-il recommandé d'en faire peu à la fois afin de l'avoir toujours fraîche.

Les lamelles et les coupes sont placées dans cette solution suivant les méthodes habituelles, et y sont laissées de une à vingt-quatre heures (les coupes jamais moins de vingt-quatre heures). Au sortir du bain colorant, les lamelles saisies avec une pince stérilisée sont rincées rapidement dans un cristallisoir plein d'eau distillée pour enlever l'excès de la matière colorante. On fait ensuite agir l'acide nitrique de la manière suivante :

On a préparé d'avance un mélange de :

Eau distillée.	3 à 5 parties
Acide nitrique pur.	1 partie

On y plonge les lamelles de deux à trois secondes, on y agite les coupes jusqu'à ce qu'elles ne dégagent plus de matière colorante. Au sortir de ce bain, on porte les objets directement dans l'alcool où la décoloration s'achève. Une fois qu'elle est complète, on passe à l'essence de girofle et on monte dans le baume au xylol ou à l'essence de térébenthine.

On peut aussi combiner une double coloration avec la méthode d'Erlich. (Voir plus loin, p. 200.)

MÉTHODES DE DOUBLE COLORATION

Méthode de Weigert. — On place les coupes pendant un temps variable (de douze à vingt-quatre heures) dans une solution de violet de méthyle ou de fuchsine dans l'eau (14 p. 100). On porte dans l'étuve la capsule contenant les coupes et la substance colorante, à une température de 45° centigrades. On lave les coupes et on les immerge dans une solution à moitié saturée de carbonate de potasse ; elles sont de nouveau lavées et passées dans l'alcool fort. Quand elles sont presque décolorées, on les met dans la solution de picro-carmin, on lave dans l'eau, puis dans l'alcool, on passe à l'essence de girofle et on monte dans le baume au xylol.

Méthode d'Erlich. — Les coupes ou les lames sont colorées d'abord, ainsi qu'il a été indiqué plus haut (page 199), soit au violet de méthyle, soit à la fuchsine ; une fois qu'elles ont subi l'action successive de l'acide nitrique et de l'alcool, on procède à la seconde coloration. Dans un cristallisoir contenant 100 grammes d'eau distillée, on laisse tomber de 10 à 15 gouttes d'une solution saturée de bleu de méthylène dans l'eau si les objets sont colorés à la fuchsine, ou de solution alcoolique saturée de brun de Bismarck si la coloration a été faite au violet. On y place les lamelles et les coupes pendant un temps généralement assez court. Les bacilles restent colorés en rouge ou en violet, le fond ou le tissu en bleu ou en

brun. C'est le procédé le plus usité pour les bacilles de la lèpre et de la tuberculose.

Procédé rapide de Fraënkel.—Dans son principe, il consiste à colorer par la solution d'Erlich à chaud et à placer les objets dans un mélange d'acide nitrique et de bleu de méthylène où ils subissent à la fois la décoloration et la recoloration du fond.

Voici la manière de procéder :

On fait bouillir un peu de la solution suivante dans un tube d'essai :

Eau distillée.	100 gr.
Aniline pure.	3
Alcool pur.	5

On ajoute 4 ou 5 gouttes de solution saturée de fuchsine et on y met les lamelles cinq minutes. On les retire et on les plonge immédiatement dans le liquide suivant filtré avec soin :

Bleu de méthylène à saturation.

Eau d'aniline.	30 gr.
Acide nitrique.	20
Alcool.	50

La lamelle est lavée et montée dans le baume par les procédés ordinaires. Ce procédé employé pour les bacilles de la tuberculose est peu fidèle.

Procédé rapide de Berlioz. — **A.** Solution d'aniline.

Aniline pure.	6 cent. cubes.
Eau distillée.	84

Faire dissoudre à chaud et filtrer après refroidissement, ajouter le mélange suivant après l'avoir également filtré :

Violet 6 B.	2 gr. 50
Alcool à 90°.	6 cent. cubes.

B. Solution de coccinine.

Coccinine.	2 gr. 50
Eau distillée.	95 cent. cubes.
Alcool à 90°.	5

Faire dissoudre et filtrer.

On mélange ces deux solutions à parties égales et on y place les préparations pendant un quart d'heure au plus. On les traite ensuite par une dissolution de carbonate de soude ou d'iodure de potassium à 5 p. 100. On lave à l'eau et à l'alcool et on monte dans le baume.

Méthode de Gram. — Lorsque les objets ont été colorés par la méthode indiquée plus haut (page 196) et décolorés, ils sont portés, au sortir de l'alcool, dans une solution d'éosine, de brun de Bismarck ou de vésuvine ; ces solutions seront employées très faibles.

On repasse dans l'alcool et on monte dans le baume. On peut aussi se servir du picro-carminate d'ammoniaque pour cette seconde coloration. (Voyez planche III.)

Coloration des spores. — La difficulté de la coloration des spores est due à la résistance de leur coque aux agents destructeurs; pour pouvoir les colorer, il faut arriver à désorganiser partiellement cette en-

veloppe. Pour cela, au lieu de passer trois fois les lamelles dans la flamme, on les passe jusqu'à dix fois ; la bactérie elle-même est désorganisée et ne peut plus se colorer, tandis que les spores plus résistantes fixent alors facilement les substances colorantes.

On peut aussi obtenir une double coloration des bactéries en sporulation (pl. III) en se servant de solutions de fuchsine dans l'eau d'aniline qu'on chauffe à l'ébullition et dans lesquelles on laisse les préparations un quart d'heure. On lave à l'eau distillée, on passe pendant quelques minutes dans l'alcool absolu et on place dans le bleu de méthylène comme dans la méthode d'Erlich. On monte ensuite au baume suivant le procédé habituel.

4° DESSIN ET PHOTOGRAPHIE DES BACTÉRIES

La reproduction des bactéries par le dessin n'a pas seulement pour but de mettre sous les yeux du lecteur l'image offerte dans le champ du microscope, elle permet à l'histologiste de pouvoir la mesurer très exactement ; pour cela, il est nécessaire au préalable de projeter sur son papier l'image d'un micromètre objectif placé sur la platine du microscope. En prenant soin de placer le papier où l'on dessine toujours à la même place sur la table, on peut ainsi connaître exactement le grossissement et en mesurant les objets dessinés à la chambre claire, on peut par un calcul simple connaître leurs dimensions exactes.

Pour dessiner les bactéries, on se sert d'une chambre

claire; il en existe différents modèles suivant les fabricants; nous donnons ici une description succincte des plus usités.

La chambre claire d'Abbé est représentée en coupe longitudinale par la figure 64. Elle se pose sur la bague supérieure de l'oculaire, à laquelle elle est solidement fixée par des vis à pression. Il est prudent d'enlever l'oculaire pour y ajuster la chambre claire; on évite ainsi d'enfoncer le tube du microscope pendant la manipulation, et par suite d'endommager la préparation.

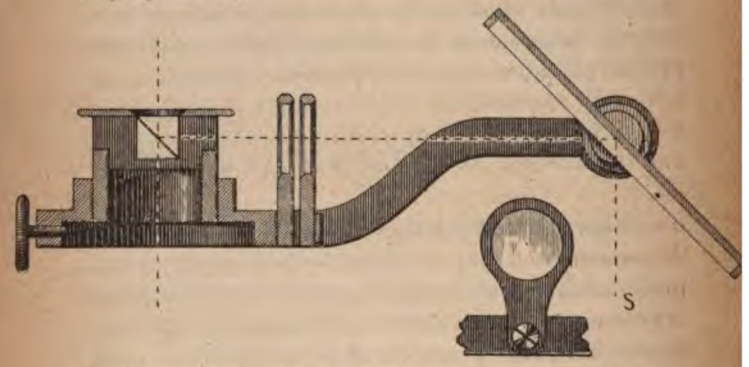


FIG. 64. — Chambre claire d'Abbé. — Cet instrument déforme peu les objets, mais le champ est très petit.

Après avoir replacé l'oculaire, muni de la chambre claire, dans le tube du microscope, on incline le miroir de celle-ci à 45°, comme l'indique la figure ci-dessus. Si l'on observe avec l'œil gauche, on dirige la chambre claire en avant; si l'on se sert de l'œil droit, on la dirige en avant ou à droite. En regardant

dans l'oculaire à travers la chambre claire, on aperçoit, comme auparavant, l'image de l'objet dans le champ du microscope. On place alors en avant ou à droite du microscope, suivant la position que l'on a donnée à la chambre claire, un pupitre à dessin horizontal, arrivant à peu près à la hauteur de la platine; ce pupitre reçoit la feuille de papier sur laquelle on dessine. On tient la pointe du crayon sous le mrioir, dans la direction S, et son image est vue dans le champ du microscope en même temps que celle de l'objet. La course des rayons lumineux, donnée par la figure 64, explique la superposition de ces deux images. Celle de la pointe du crayon subit deux réflexions : la première, qui la dirige horizontalement, a lieu sur le grand miroir ; la seconde, qui la ramène à la verticale, se fait entre deux prismes de verre, sur une surface argentée inclinée à 45°. L'image de l'objet arrive directement à l'œil, grâce à une petite ouverture ménagée dans la couche d'argent entre les deux prismes. Lorsque le pupitre à dessin n'est pas placé exactement à la distance visuelle, la pointe du crayon n'apparaît qu'avec peu de netteté; il faut alors élever ou, plus rarement, abaisser le pupitre. On détermine la hauteur nécessaire au moyen de livres que l'on place l'un sur l'autre. Mais l'image n'est bien visible, que lorsqu'il existe un rapport convenable entre son degré d'éclairage et celui de la feuille de papier sur laquelle on dessine.

Lorsque celle-ci est trop lumineuse, on peut tempérer son éclairage par des verres fumés qui sont adaptés à la chambre claire. Pour dessiner, on sui

les contours de son image sur la feuille de papier avec la pointe du crayon taillé le plus fin possible.

On peut aussi se servir de la chambre claire de Nachet, ou de celle de Zeiss : ces deux derniers modèles, projetant obliquement les rayons, exigent que l'on dessine sur un plan incliné; mais ils présentent l'avantage de pouvoir être conservés constamment sur le microscope, car on peut facilement les glisser de côté ou les relever pendant l'observation. La chambre claire d'Abbé permet de dessiner sur un plan horizontal, mais doit être retirée de l'oculaire pendant l'observation.



FIG. 65. — Chambre claire de Nachet. — Le champ de l'instrument est grand, mais il déforme légèrement les images. (Environ 1/21.)

Avec toutes ces chambres claires, il faut un pupitre à dessin dont l'élévation doit en général correspondre à la hauteur de l'objectif, mais cette distance se règle surtout suivant la vue de l'observateur.

Nous n'avons pas de préférence spéciale pour l'une quelconque de ces chambres claires ; avec l'habitude, on arrive, avec l'un ou l'autre de ces modèles, à faire de bons dessins; cependant, il est certain que c'est avec la chambre claire d'Abbé qu'on arrive le plus facilement à voir la pointe du crayon.

Lorsqu'on exécutera des dessins avec ces instru-

ments, il faudra avoir soin de se servir d'un crayon dur, dont la pointe bien noire soit aussi acérée qu'une aiguille ; on conçoit l'utilité de cette recommandation, lorsqu'il s'agit de reproduire des détails aussi fins que la forme de la plupart des bactéries. L'erreur de l'épaisseur du crayon amènerait de détestables résultats, et le volume d'une bactérie arrivant à être doublé, le dessin serait, scientifiquement, sans valeur.

Il ne faut pas croire que l'on peut du premier coup dessiner à la chambre claire ; c'est là l'échec de bien des commençants qui apprennent, à leurs dépens, que suivre simplement les contours d'un objet n'est pas chose facile. Aussi, nous recommandons à ceux qui ne sont pas familiarisés avec cet exercice de commencer par dessiner à un faible grossissement des diatomées à grosses stries, ou de gros infusoires, ou bien encore des globules du sang, des cellules épithéliales. Pour faire de bons dessins de microbes, il faut déjà être bon histologiste et savoir dessiner.

En tout cas, le dessin à la chambre claire sera limité dans ses applications, il devra être utilisé seulement pour fixer le contour et les dimensions des bactéries ; car, pour ce qui est d'obtenir par ce procédé de fins détails, il ne faut pas y songer, surtout avec les petites espèces bactériennes. Lorsqu'on est habile dessinateur, on peut dessiner les contours à la chambre claire et terminer le dessin à la main, en donnant même aux objets les couleurs qu'ils possèdent dans la préparation histologique.

Si habilement que soit fait un dessin, il ne vaudra jamais la photographie au point de vue de la fidélité

et de l'exactitude ; malheureusement, la photographie microscopique, et principalement celle des bactéries, est entourée de telles difficultés pratiques, qu'il faut une réelle habileté et un très long apprentissage pour arriver à des résultats sinon bons, au moins présentables.

Le grand avantage de la photographie est dans la reproduction exacte de la dimension des bactéries ; il est d'usage de photographier, en se plaçant dans les mêmes conditions, les divisions du micromètre objectif, de sorte qu'en collant à côté de la photographie la reproduction de ces divisions, on peut toujours comparer ces dernières avec les bactéries imprimées sur le papier sensible. De plus, la photographie imprime sur les plaques sensibles des détails invisibles pour l'œil.

Les auteurs sont loin d'être d'accord sur la valeur de la photographie appliquée à l'étude de la bactériologie. C'est ainsi que Cornil et Babès, tout en reconnaissant la valeur incontestable des images photographiques, n'engagent pas en somme à entrer dans cette voie, où les difficultés sont si grandes, que le résultat est souvent loin de compenser la peine qu'on s'est donnée. Il est certain que la reproduction photographique des bactéries est difficile, qu'elle exige beaucoup de temps, une patience et une persévérance très grandes. Mais ce ne sont pas là des difficultés insurmontables pour ceux qui se livrent avec ardeur à l'étude des microbes.

Nous ne pouvons, faute de place, donner ici une description complète des procédés et appareils de la

photographie microscopique ; nous renvoyons pour cela aux traités spéciaux, et nous nous contenterons d'indiquer les principes généraux que l'on ne doit pas perdre de vue.

Tous les constructeurs de microscopes fabriquent des appareils pour la photographie microscopique. Si on se livre à ce genre d'études, on devra donc, de préférence, choisir l'appareil s'adaptant au modèle du microscope que l'on emploie. Les appareils verticaux ont tous de graves inconvénients : les uns peuvent, par leur poids, détériorer le mécanisme du microscope, les autres sont instables et le moindre mouvement est multiplié par la hauteur de l'appareil au-dessus de la table, condition déplorable pour la netteté des images. On donnera donc la préférence aux appareils horizontaux. Il sera nécessaire que le pied du microscope et la chambre photographique soient indépendants, mais placés sur une coulisse commune, et bien centrés l'un par rapport à l'autre. Le microscope devra être disposé comme pour l'observation directe, c'est-à-dire que, si un objet a été observé avec l'éclairage Abbé, avec la lumière directe ou oblique, on devra se placer dans les mêmes conditions.

Certaines précautions devront être prises pour la préparation : celles qui sont faites au baume de Canada sont difficiles à photographier ; on se servira surtout de préparations à l'eau, à la glycérine ou à l'acétate de potasse. La coloration de la préparation a aussi une grande influence. Voici, à ce propos, ce que dit Koch :

« Chaque fois que cela est possible, on doit colorer les préparations en brun, de manière à permettre de photographier les bactéries, car, quoique la teinte puissante et concentrée des couleurs d'aniline rouges ou bleues frappe davantage la vue que les couleurs d'un brun un peu sombre, on n'a pas encore pu, jusqu'à présent, obtenir de bonnes photographies de bactéries colorées en bleu ou en rouge et montées dans le baume de Canada, tandis qu'il n'y a aucune difficulté à obtenir des images photographiques de préparations colorées en jaune ou en brun. » Cette nécessité de colorer les objets en brun est loin d'être absolue, et elle est inutile si on se sert de plaques dites iso-chromatiques.

Nous supposons l'opérateur muni de tout l'attirail usité dans la photographie vulgaire, en tout applicable à la photographie microscopique.

Il est important d'avoir un éclairage puissant ; celui qui est préférable est la lumière solaire, mais on ne l'a pas toujours à sa disposition, et l'on est alors forcé d'avoir recours à la lumière artificielle. La lumière électrique et surtout la lumière oxhydrique sont les meilleures; mais, à leur défaut, on pourra se servir d'une lampe à paraffine ou d'un projecteur éclairé par de gros becs au pétrole. Cornil et Babès pensent qu'on ne doit pas se servir de plaques sèches ; nous ne partageons pas cet avis et nous conseillons les plaques dites iso-chromatiques fabriquées par Atout-Tailfer, à Paris. Ces plaques doivent à la présence de l'éosine la précieuse propriété de reproduire les objets colorés avec leur

véritable intensité de teinte. C'est la dimension dite $^1/_4$ de plaque qui est préférable, et on prendra, de préférence, celles qui portent des étiquettes vertes.

Nous conseillons vivement aux débutants de procéder comme pour le dessin et de commencer par faire des photographies d'objets vulgaires à un faible grossissement, par exemple, des ailes de mouches, des coupes de végétaux, etc.

On commence par mettre au point avec l'oculaire, en ayant soin de placer devant l'œil un verre fumé, si l'on se sert de lumière oxhydrique, de manière à ne pas être aveuglé par l'intensité de la lumière.

Une fois le point obtenu, on pousse la chambre jusqu'à ce que le tube du microscope, après avoir enlevé l'oculaire, s'applique exactement à l'orifice qui lui est réservé, sans laisser passer aucune lumière autour de lui. A ce moment, l'image se projette sur le verre dépoli placé au fond de la chambre ; mais, comme il faut que la mise au point soit parfaite, on enlève la glace dépolie, qu'on remplace par une plaque de verre ordinaire. On met alors au point avec de grandes précautions, au moyen d'une loupe disposée à cet effet. On place alors le châssis chargé de la plaque sensible ; après avoir intercepté la lumière, on lève le volet et on attend quelque temps, de façon que toute vibration ait cessé. On procède alors à l'exposition à la lumière pendant un temps variable, avec la sensibilité des plaques, le grossissement employé et l'intensité de la source lumineuse. On va ensuite développer l'image.

Pour cela, on porte le châssis et la glace impressionnée dans la chambre noire. Dans une cuvette, on place :

Eau distillée.	200 gr.
Acide pyrogallique.	1

La dissolution se fait rapidement, et, une fois qu'elle est bien opérée, on immerge la glace, la couche sensible *en dessus*.

D'autre part, on a une solution ainsi composée :

Ammoniaque liquide..	10 gr.
Bromure de potassium..	2
Eau distillée.	100

Après que la glace a séjourné quelques minutes dans l'acide pyrogallique, on la retire, et, au moyen d'un compte-gouttes, on met dans la cuvette 10 gouttes de la solution ammoniacale ; on immerge de nouveau la glace, on voit l'image apparaître peu à peu ; au bout de quelques instants, on retire de nouveau la plaque du bain, on ajoute une nouvelle série de 10 gouttes de liquide ammoniacal, et on continue ainsi jusqu'à ce que l'image ait acquis l'intensité voulue, et que tous les détails désirés se soient imprimés sur la gélatine. Une fois qu'on a atteint le degré convenable, on lave rapidement et on place, pour fixer la glace, dans la solution d'hyposulfite de soude dans l'eau à 15 p. 100.

Une fois toute teinte opaline disparue, on met la glace dans l'alun pour durcir la gélatine, et on lave pendant plusieurs heures à eau courante, puis on

fait sécher. Il ne reste plus alors qu'à tirer les épreuves positives par les procédés ordinaires.

En résumé, la photographie présente l'avantage de la fidélité, en faisant abstraction de l'observateur; elle sera donc un précieux instrument d'étude: mais, pour l'enseignement, les dessins seront préférables, en permettant d'éliminer les détails inutiles.

CHAPITRE III

CULTURE DES BACTÉRIES

Dans le précédent chapitre, nous avons décrit succinctement les méthodes employées pour l'étude histologique et morphologique des bactéries, et nous avons donné sur ce sujet tous les détails compatibles avec l'étendue forcément restreinte de cet ouvrage. En pratique, surtout en ce qui concerne la médecine et le diagnostic bactériologique des maladies, ces méthodes histologiques suffiront à l'usage journalier, mais elles seront bientôt jugées insuffisantes par tout esprit chercheur et désireux d'acquérir sur la microbiologie des notions scientifiques et un peu étendues. Pour connaître véritablement les bactéries, il faut avoir assisté à toutes les phases de leur développement et de leur vie, il faut avoir examiné, pour chaque espèce, les conditions de milieu matériel et de température où ces organismes atteignent leur plus haut degré possible de perfection vitale.

C'est par la méthode dite des cultures qu'on arrive à ce résultat. Cette méthode, créée de toutes pièces par Pasteur, ne permet pas seulement l'étude de la

physiologie et du développement des bactéries, elle est la vraie méthode d'isolement des bactéries à l'état de pureté, isolement nécessaire dans l'expérimentation avec les bactéries pathogènes. C'est aussi par des cultures, en modifiant les milieux ou les conditions physiques, qu'on arrive à l'atténuation des virus et à la fabrication des vaccins.

Tout individu un peu familiarisé avec les études histologiques, arrive assez rapidement et facilement à se perfectionner dans les méthodes microscopiques applicables aux bactéries. Il suffit d'avoir les instruments nécessaires et une certaine adresse naturelle. L'étude des bactéries par les cultures nécessite d'autres qualités qu'il est plus rare de rencontrer, surtout dans le monde médical, où les méthodes d'observation sont plus en honneur, et d'ailleurs plus à leur place, que les méthodes expérimentales. Pour arriver à pratiquer les cultures avec toute la rigueur scientifique désirable, il faut déjà être expert dans les manipulations chimiques vulgaires ; savoir chauffer sans les casser, manipuler de diverses façons avec adresse les appareils de verre, n'est pas chose aussi facile qu'on pourrait le croire ; et il est nécessaire de faire un long apprentissage, pour ne pas s'exposer à perdre par inexpérience le fruit d'un travail souvent ingrat et toujours long et assidu. Je n'ai pas besoin de dire qu'il faut développer et mettre en jeu dans cette étude toutes les qualités possibles de rigueur et de finesse dans l'observation ; si l'on ne prémunit pas son esprit contre toutes les causes d'erreur qui viennent assaillir l'expérimentateur dans ces mani-

pulations délicates, on s'expose à bien des mécomptes. Ces causes d'erreur proviennent des instruments, des liquides eux-mêmes, des mains de l'opérateur, de l'atmosphère ; pour s'en garer et les éviter, on devra se discuter soi-même, peser les résultats et s'abstenir d'idées préconçues, sans quoi on s'expose à des conclusions prématurées, le plus ordinairement fausses.

Une autre question, d'ordre bien différent, ajoute encore à la difficulté, c'est le prix de revient ; pour arriver à un résultat dans les cultures des bactéries, il faut être très bien outillé ; or, l'outillage strictement nécessaire coûte fort cher et une installation complète n'est guère possible en dehors des laboratoires officiels.

On devra donc, lorsqu'on disposera de moyens restreints, suppléer aux choses qui manqueront par de l'adresse, de l'habileté et une grande patience, moyennant quoi, on pourra encore obtenir des résultats qui compenseront largement la peine qu'on se sera donnée.

L'étude des cultures des bactéries comporte deux grandes méthodes générales, qui chacune ont leurs partisans et leurs détracteurs ; ces deux méthodes en effet ont chacune leurs avantages et leurs inconvénients. La première, celle que nous étudierons d'abord, est due à Pasteur, c'est la méthode de culture dans les bouillons, ou cultures en milieux liquides. La seconde, due à R. Koch, comprend l'application des milieux solides ; elle est aujourd'hui fort en honneur et jouit d'une très grande vogue, surtout pour les études de la bactériologie médicale. Nous

avouons ne pas partager absolument cet enthousiasme pour les méthodes de Koch; si leur technique est plus facile, si elles se prêtent mieux aux recherches quotidiennes, il faut bien dire que jusqu'ici elles n'ont donné le jour à aucune découverte importante en bactériologie; elles se prêtent peu aux inoculations et à l'atténuation des virus. De plus leur emploi, la façon dont on les met en œuvre fourmille de causes d'erreurs. Mais nous n'avons pas ici à prendre parti pour l'une ou l'autre de ces méthodes; nous allons exposer en détail leur technique réciproque, nous contentant de ces remarques générales sur leur valeur relative.

A. Culture en chambre humide.

Nous avons déjà plusieurs fois parlé de cette méthode de culture, dont la simplicité fait tout le mérite; nous n'ajouterons ici seulement que quelques détails complémentaires. Si, au lieu de porter le microscope à l'étuve, et d'observer de temps en temps, on veut se livrer à une observation continue, il faut se servir d'une chambre humide chauffée ou d'une platine chauffante. Il existe un certain nombre de modèles de ces appareils; nous ne ferons que rappeler pour mémoire la platine chauffante de Ranvier et celle de Vignal; ce sont là d'excellents instruments, mais les difficultés de leur maniement les ont empêchés jusqu'ici de passer dans la technique courante; et en somme, l'examen des cultures sous le microscope se fera suffisamment bien en plaçant tout l'appareil dans l'étuve à culture.

B. Méthodes de culture dans les milieux liquides ou méthodes de Pasteur.

Nous décrirons successivement les instruments employés dans les cultures, la manière de confectionner les milieux nutritifs et celle de les stériliser, en terminant par un exposé détaillé du manuel opératoire des cultures, et des règles à suivre pour leur étude méthodique. Cet exposé sera forcément un peu synthétique, car chaque expérimentateur a modifié les procédés suivant ses besoins et sa convenance particulière; nous n'indiquerons donc que les grandes lignes de la méthode, chacun pouvant tirer l'application spéciale de ces règles générales.

1° **Instruments**. — *Etuves à stériliser les instruments*. — La stérilisation parfaite des instruments et des vases de culture est une condition indispensable de la réussite des cultures; tandis que les milieux de culture présentent des conditions multiples qui rendent leur stérilisation difficile et délicate, les instruments et les vases se stérilisent facilement; il suffit pour cela de les porter à une température élevée, pendant un certain temps, dans une étuve sèche.

Tous les modèles d'étuves sèches qui ont été proposés remplissent le but, il suffit qu'on puisse porter la température aux environs de 200 degrés. Le modèle représenté dans la figure 66 est commode; il se compose d'un cylindre de tôle chauffé à sa partie inférieure par un fourneau à gaz. Il est muni d'un

couvercle armé à sa partie inférieure d'un crochet permettant de suspendre une sorte de seau en fil de fer, dans lequel sont placés les ballons ou tubes à stériliser; le couvercle porte en outre une ouverture

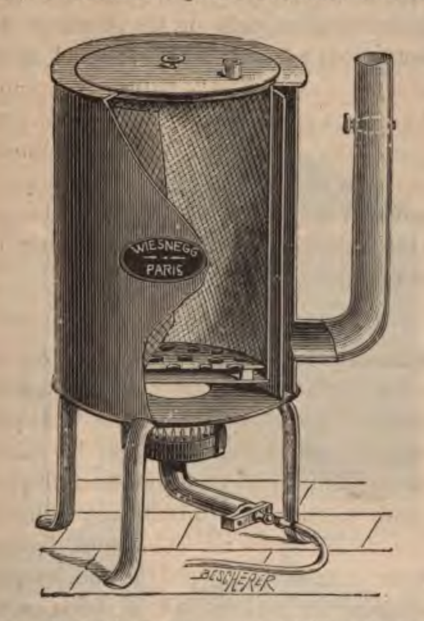


FIG. 66. — Poêle de Pasteur pour stériliser la verrerie.

permettant de fixer un thermomètre qui renseignera l'observateur sur l'état de la température à l'intérieur de l'étuve.

L'étuve de Wiesnegg (fig. 67), qui existe dans la plupart des laboratoires de chimie où elle sert aux

évaporations, convient très bien pour la stérilisation. Elle est à double paroi et présente l'avantage d'être fermée par une porte vitrée, qui permet de voir ce qui se passe à l'intérieur.

Les fabricants allemands ont cherché à perfectionner ces étuves, en rendant plus complète la circula-



FIG. 67. — Etuve de Wiesnegg.

tion de l'air chaud ; leurs modèles sont ordinaire-

ment protégés contre le refroidissement par une enveloppe d'amiante en feuilles. Tous ces perfectionnements, excellents en eux-mêmes, sont, en somme, de peu d'importance en ce qui concerne les étuves à stériliser, car, dans les modèles que nous avons cités, une fois la température arrivée au degré voulu, elle s'y maintient assez bien pour amener une bonne stérilisation.

Si l'on fait des recherches nécessitant la mise en œuvre d'un grand nombre de cultures, il faut se munir d'un appareil stérilisateur placé à demeure, dans un massif en maçonnerie, tel que celui qui est installé au laboratoire de M. Miquel à Montsouris, mais c'est là une installation toute spéciale, réservée la plupart du temps aux laboratoires officiels.

Etuves de culture. Incubateurs. — Les conditions qu'on doit exiger d'une étuve incubatrice, sont autrement difficiles à remplir; aussi, les expérimentateurs se sont efforcés, aidés par les constructeurs, d'arriver à combler autant que possible tous les désidérata.

Une bonne étuve incubatrice sera toujours chauffée au gaz, elle devra être protégée très soigneusement contre le rayonnement, de façon à ce que la température intérieure varie le moins possible ; pour assurer la constance de cette température, on devra munir l'étuve d'un régulateur de pression du gaz et d'un thermo-régulateur, de façon à multiplier les chances de réussite.

Notre intention n'est pas de donner ici la descrip-

tion détaillée de tous les incubateurs employés ; chacun adopte un modèle qui s'applique plus spécialement au genre de recherches qu'il a entreprises; nous décrirons seulement ceux qui répondent au plus grand nombre de cas.

L'étuve d'Arsonval est l'instrument par excellence; c'est à elle qu'on devra s'adresser pour les recherches délicates exigeant une régulation parfaite de la température (ses variations ne sont guère que de quelques dixièmes de degré) ; elle sera surtout nécessaire lorsqu'on voudra se livrer à la confection des virus atténués, destinés aux vaccinations suivant la méthode de Pasteur.

Nous empruntons la description de l'étuve d'Arsonval et de son thermo-régulateur à la notice de la maison Wiesnegg.

D'Arsonval a eu l'idée d'utiliser les variations de température, c'est-à-dire de volume, de la totalité du matelas liquide enveloppant l'étuve, au réglage immédiat du gaz conduit au brûleur. C'est là ce qui constitue l'originalité et l'extrême sensibilité de ce genre d'étuves, applicables à l'embryologie, la botanique, la physiologie, etc.

L'appareil usuel se compose de deux vases cylindro-coniques concentriques, limitant deux cavités : l'une centrale, qui est l'enceinte qu'on veut maintenir à température constante, l'autre annulaire que l'on remplit d'eau par la douille et qui constitue le matelas liquide soumis à l'action du foyer. Ce matelas d'eau distribue régulièrement la chaleur autour de l'enceinte, et l'empêche de subir de brusques varia-

tions de température. La paroi externe de l'étuve porte une tubulure latérale (fig. 68) qui, communi-



FIG. 68. — Étuve incubatrice de M. d'Arsonval.

quant avec l'espace annulaire, se trouve fermée à l'extérieur par une membrane verticale de caoutchouc,

laquelle constitue, lorsque l'appareil est clos, la seule portion de la paroi pouvant traduire à l'extérieur, en la totalisant, les variations de volume du matelas d'eau. Or, le gaz qui doit aller au brûleur est amené par un tube (4) qui débouche normalement au centre de cette membrane et à une faible distance de sa surface externe dans l'intérieur d'une boîte métallique, d'où il repart par un autre orifice (5) qui le conduit au brûleur. Tube et membrane constituent de la sorte un robinet très sensible, dont le degré d'ouverture est sous la dépendance des variations de volume du matelas d'eau, et qui ne laisse aller au brûleur que la quantité strictement nécessaire pour compenser les causes de refroidissement. Dans cette combinaison, le combustible chauffe *directement* le régulateur, qui à son tour réagit *directement* sur le combustible ; ainsi se trouve justifiée l'épithète appliquée à ces régulateurs parce qu'ils ne peuvent être lents à se régler.

Le maniement de l'appareil se fait de la manière suivante :

1° On remplit d'eau distillée et par conséquent *privée d'air* l'espace annulaire, en ouvrant la douille du haut. Ce remplissage se fait une fois pour toutes;

2° On met dans cette douille un thermomètre *qui ne la bouche pas* et laisse l'écoulement libre pour l'eau provenant de la dilatation ;

3° On ajuste les tubes de caoutchouc, on allume le brûleur, et on dévisse le tube jusqu'à ce que le gaz ne passe plus;

4° Quand le thermomètre marque la température voulue, on l'enlève et on le remplace par le bouchon qui porte le tube de verre, sans toutefois oublier de remplir avec un peu d'eau la capacité laissée vide par la suppression du thermomètre.

L'appareil se trouve définitivement réglé pour cette température, et voici par quel mécanisme : le tube (D) (fig. 69) qui amène le gaz, porte un petit disque (*f*), qui, s'appliquant sur la membrane, tend sans cesse à l'éloigner de l'orifice d'arrivée du gaz, grâce à l'élasticité d'un petit ressort à boudin (*h*). Tant que la

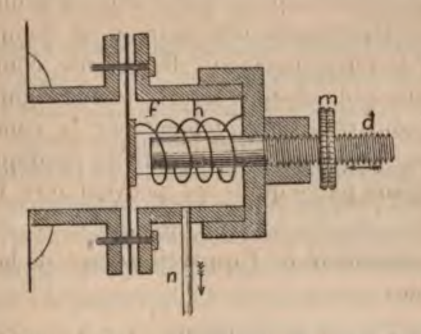


FIG. 69. — Coupe du régulateur à membrane de M. d'Arsonval.

douille du haut est ouverte, l'eau provenant de la dilatation s'écoule au dehors, et, le gaz continuant à affluer au brûleur par la tubulure (D), la température s'élève d'une façon continue ; mais, lorsqu'on met le bouchon surmonté du tube, l'eau provenant de la

dilatation, au lieu de se perdre, monte dans le tube de verre, et cette colonne d'eau exerce sur la membrane une pression de plus en plus forte qui, surmontant graduellement l'élasticité du ressort à boudin, rapproche de plus en plus la membrane de l'orifice d'arrivée du gaz dont le passage se trouve ainsi réglé. Si, au moment du réglage, la flamme ne baissait pas, malgré l'élévation de la colonne d'eau dans le tube de verre, cela prouverait que l'orifice d'arrivée du gaz est trop loin de la membrane. On visserait le tube (D) jusqu'à ce qu'on vît baisser la flamme; un contre-écrou (M) sert à fixer ce tube dans la disposition choisie.

L'appareil ainsi réglé retombe à la même température au rallumage.

Cette disposition est très commode, en ce sens que l'appareil est réglé une fois pour toutes. Les personnes qui voudraient utiliser toute la sensibilité de l'appareil peuvent supprimer le tube de verre et boucher hermétiquement la douille. Seulement, il ne faut pas oublier de la *déboucher* lorsqu'on éteint le gaz, pour permettre à l'air de rentrer lorsque l'eau se contracte par le refroidissement.

Au lieu de remplir l'espace cylindrique d'eau froide et de porter le tout à la température voulue, on peut aussi bien, lorsqu'on règle l'appareil pour la première fois, y ajouter une certaine quantité d'eau bouillante, afin d'atteindre plus rapidement le degré voulu. Il est utile aussi de régulariser la pression du gaz sur la canalisation même, pour éviter les oscillations considérables qui se produisent à certains mo-

ments de la journée, et de placer l'étuve à l'abri des courants d'air, dans une place dont la température varie dans des limites assez restreintes. Il convient, dans le même but, de l'entourer d'une enveloppe de feutre ou d'asbeste. On épargne ainsi le travail du régulateur qui pourra se faire avec plus de précision pour les plus petites variations de température.

La forme cylindrique de l'étuve d'Arsonval n'est pas toujours commode ; on l'a modifiée de diverses façons, mais si l'on adopte une autre forme que la forme cylindrique, il faudra, pour que le réglage de la température se fasse dans de bonnes conditions, que les parois soient très rigides.

Muencke a remplacé les petits becs de gaz adaptés par Wiesnegg à son étuve, par de petits brûleurs munis d'une cheminée en mica, destinée à protéger la flamme contre les courants d'air et à empêcher à la fois une extinction brusque et la diffusion du gaz non brûlé, qui constituerait avec l'air ambiant un dangereux mélange détonant.

Koch a encore perfectionné ces appareils en les munissant de fermoirs automatiques qui suppriment l'arrivée du gaz dans tout brûleur qui s'est éteint. Ce sont là des appareils de sûreté qui sont loin d'être inutiles, étant donnée la fréquence des accidents résultant d'une fermeture inconsidérée de la conduite principale du gaz ; malheureusement leur fonctionnement est incertain, et c'est plutôt un perfectionnement théorique.

Un modèle plus simple que ceux que nous venons de décrire est l'étuve de Babès, très recommandée

par beaucoup d'auteurs. Cette étuve présente en effet de grandes commodités, c'est elle qu'on devra choisir pour les petites installations, et lorsqu'on n'aura pas besoin d'une très grande précision. Elle est formée d'une caisse rectangulaire à doubles parois, recouverte de feutre sur toutes les faces, l'intervalle formé par la double paroi se remplit d'eau; la partie supérieure est percée de deux ouvertures, l'une pour le thermo-régulateur, l'autre pour le thermomètre ; la partie inférieure est formée d'une pyramide quadrangulaire, c'est elle qui est chauffée par des brûleurs munis d'une cheminée en mica. La porte de l'étuve est double, le battant extérieur est feutré pour éviter la déperdition du calorique, la porte intérieure est formée d'une lame de glace adaptée à coulisse, de sorte qu'on peut de l'extérieur examiner ce qui se passe sans ouvrir l'étuve.

Il existe un autre modèle d'étuve de Babès (fig. 70) plus large et destiné surtout aux cultures en chambre humide sur les pommes de terre, elle est formée de plusieurs compartiments ne communiquant pas les uns avec les autres, de telle sorte qu'on puisse les ouvrir d'une façon indépendante.

Comme notre intention n'est pas ici de faire un traité complet, nous devons nous borner aux choses strictement nécessaires, renvoyant pour le surplus aux grands ouvrages de bactériologie ; aussi nous ne ferons que mentionner la grande étuve de Pasteur, et toutes les grandes installations.

Une des difficultés de toutes les étuves en général, est que le milieu intérieur n'est pas partout à la

même température ; on y a partiellement remédié en faisant entrer de l'air par-dessous et en créant une

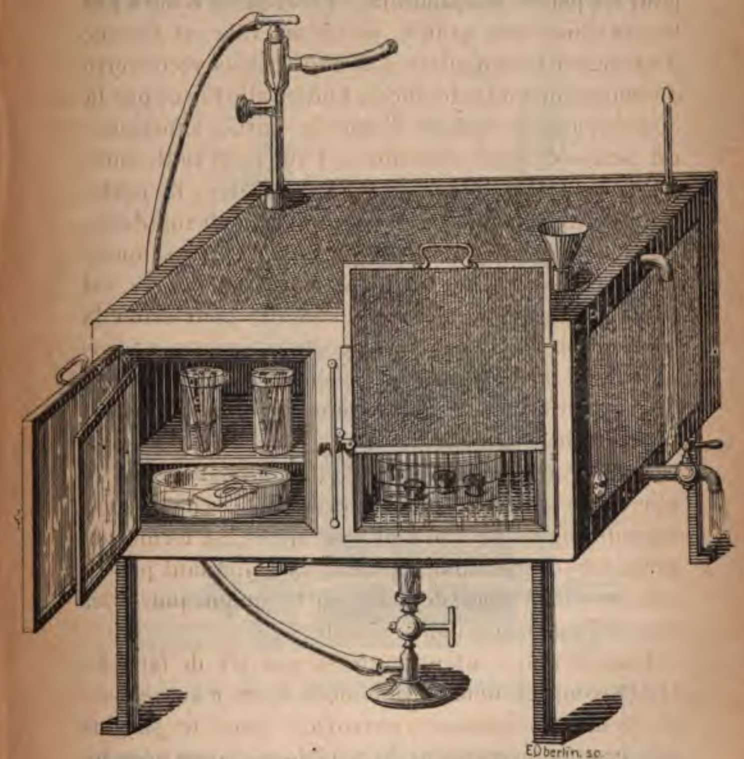


FIG. 70. — Étuve de Babès (grand modèle.)

circulation permettant à l'air chaud de s'échapper par des ouvertures pratiquées dans le couvercle. Si bien construite que soit une étuve, elle ne peut fonc-

tionner convenablement si elle n'est munie d'appareils réglant la température. Un seul instrument est ordinairement insuffisant et il faut généralement en

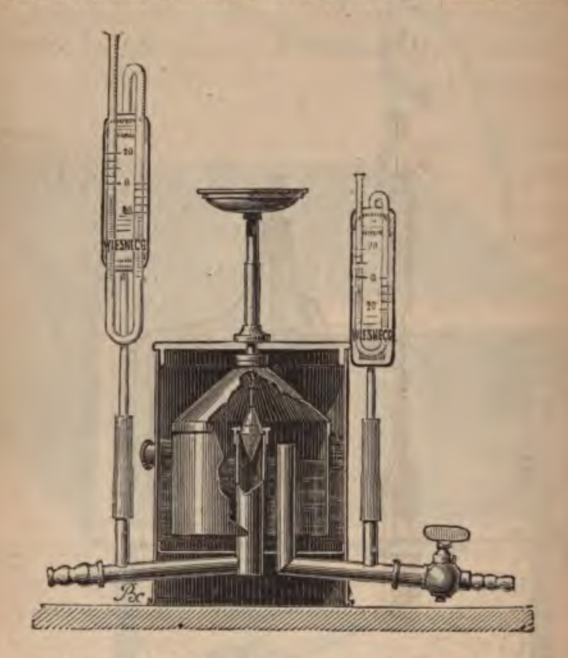


FIG. 71. — Régulateur de pression de M. Moitessier.

adapter deux : un régulateur de pression pour le gaz, et un thermo-régulateur automatique.

Le régulateur de pression de Moitessier (fig. 71) est celui auquel on devra donner la préférence.

Les thermo-régulateurs les plus recommandables

sont : celui de d'Arsonval qui a déjà été décrit avec l'étuve et ceux de Reichert en Allemagne et de Schlœsing en France (fig. 72 et 73).

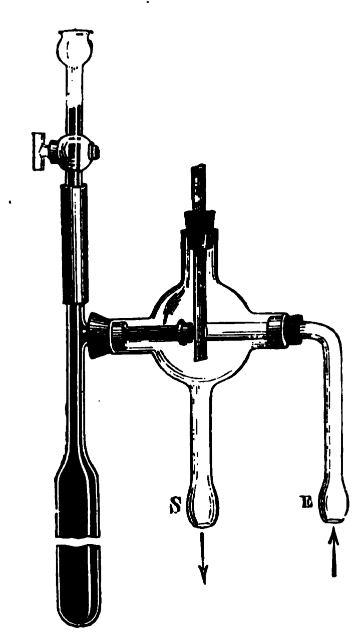


FIG. 72. — Régulateur de Schlœsing.

Lorsqu'on ne veut pas faire de recherches très précises, ou qu'on ne veut pas faire de dépenses, on peut se contenter comme incubateur des couveuses ordinaires, et des étuves simples au pétrole ou à gaz usitées dans les laboratoires.

Ces instruments sont suffisants pour obtenir des températures n'oscillant pas plus de 2 à 4°.

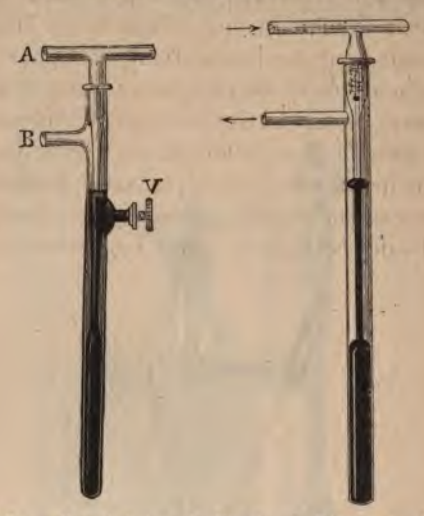


FIG. 73. — Régulateurs de Reichert. Divers modèles.
(Le modèle à vis est universellement adopté.)

Vases de culture et accessoires. — La forme et l'aspect extérieur des vases de culture importent peu, et, suivant la remarque de Miquel, ils peuvent revêtir les formes les plus diverses; il est cependant un certain nombre de conditions générales qu'ils doivent toujours remplir. Ils seront le moins encombrants qu'il sera possible, de manière à permettre d'économiser la place; ils seront construits de sorte que le liquide nutritif soit toujours à l'abri des causes d'ensemencement étrangères à la culture, surtout des

poussières atmosphériques ; en même temps, la forme des vases devra permettre à l'observateur de puiser facilement le liquide de culture à ses diverses périodes, soit pour des inoculations, soit pour un nouvel ensemencement. De plus, on s'arrangera pour que l'air puisse se renouveler facilement à la surface du liquide nutritif. Nous allons donner ici la description des principaux vases employés, sans donner la préférence à aucun modèle, pensant que chacun d'eux répond à des besoins et à des indications spéciales.



FIG. 74. — Ballon Pasteur.

Ballon Pasteur (fig. 74). — Dans ses recherches sur les fermentations et sur la culture des mucédinés, Pasteur s'est servi d'un appareil qu'il décrit dans ses études sur la bière, et qui porte aujourd'hui son

nom. Il consiste essentiellement en un ballon à deux tubulures d'une capacité d'un demi-litre environ. L'une des tubulures est étirée en un tube mince deux fois recourbé, l'autre est plus grosse, rectiligne, et fermée à son extrémité par un bouchon de verre réuni à la tubulure par un bout de tube de caoutchouc. Cet appareil permet l'accès direct de l'air sans qu'on ait besoin de le filtrer préalablement par de l'ouate. Pour l'usage, on le remplit à moitié du liquide nutritif, qu'on porte à l'ébullition en laissant la vapeur s'échapper par la tubulure droite; on la ferme ensuite avec le bouchon de verre qu'on a eu soin de flamber au moment de l'adapter, la vapeur s'échappe alors en sifflant par le tube recourbé ; au bout de quelques minutes, on retire le feu et l'air rentre lentement en déposant sur le petit tube mouillé par la vapeur d'eau les germes qu'il peut contenir, et dans ces conditions le liquide se conserve clair indéfiniment. Veut-on ensemencer le ballon, ou y faire une prise de culture, on enlève le bouchon de verre après l'avoir rapidement flambé, et on porte la substance à inoculer au sein du liquide avec un fil métallique stérilisé, ou bien on puise quelques gouttes de cette culture avec une longue pipette capillaire ; le bouchon de verre est de nouveau rapidement flambé et replacé.

Cet appareil qui a servi à Pasteur dans ses travaux sur la génération spontanée, peut être utilisé pour les liquides stérilisables par l'ébullition à la pression normale; mais il est insuffisant pour les bactéries et, de plus, il est encombrant et peu pratique.

Tubes en U (fig. 75). — Ces tubes ont été imaginés par Pasteur en 1876; ils étaient construits primitivement pour étudier l'action des principes chimiques sur les cultures, en opérant le mélange à l'abri du contact des germes atmosphériques; ils avaient aussi pour but de placer dans une des branches un liquide témoin, un seul des côtés recevant l'ensemencement. Le tube en U de Pasteur est formé de deux réservoirs communiquant entre eux et avec l'air extérieur au moyen d'un tube vertical bouché avec de l'ouate; chaque récipient est muni d'une pointe effilée dirigée en bas. Voici, d'après Duclaux, comment s'opère le remplissage.

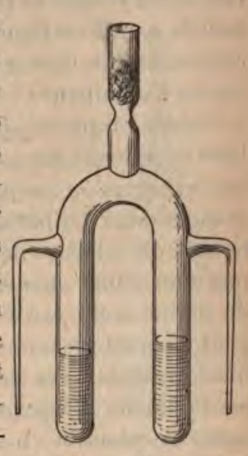


FIG. 75. — Tube en U de Pasteur.

On prépare l'infusion organique sur laquelle on veut opérer, on la filtre pour l'avoir limpide, on la porte à l'ébullition dans un vase ouvert. Pendant qu'elle bout, on prend les tubes préparés plus haut, on passe rapidement l'effilure dans une flamme, on fait un trait avec une lime ou un couteau à verre, on brise la pointe sans choc, on la repasse de nouveau dans la flamme et on l'introduit dans l'infusion bouillante et débarrassée par cette ébullition même des germes vivants qu'elle pourrait contenir. On aspire doucement pour faire pénétrer dans le tube une cer-

taine quantité de liquide. Quand on en a introduit assez, on cesse d'aspirer. Le liquide soulevé dans la tubulure latérale retombe tout doucement dans le verre : on enlève le tube, on chasse, en soufflant un peu, la goutte de liquide restée adhérente à la pointe effilée, et on ferme immédiatement celle-ci à la lampe d'émailleur.

Pour les liquides qu'on craindrait de ne pas stériliser complètement par une simple ébullition en vase ouvert, et qu'on prépare, comme Pasteur le recommande, dans des ballons scellés et portés à 110° dans le bain de chlorure de calcium ou l'autoclave, il faut procéder d'une manière un peu différente ; sur le col du ballon scellé, on fait un trait de lime. On suit ce trait avec un morceau de charbon enflammé, de manière à obtenir une fente circulaire. Le col se trouve ainsi détaché et séparé sans chocs du ballon qu'il fermait. On procède ensuite de la même manière au remplissage des tubes.

Ces tubes en U de Pasteur étaient placés à l'étuve à cheval sur des tringles où ils se tenaient en équilibre naturellement.

Ballons scellés de Miquel (fig. 50). — Miquel a pendant longtemps fait ses cultures dans des ballons scellés à la pression ordinaire et portés ensuite à 110°. Pour l'ensemencement, il cassait la pointe effilée, introduisait la substance à inoculer et refermait rapidement l'effilure. L'air n'affluait pas librement dans le ballon, mais celui-ci, étant rempli à peine au tiers, contenait encore assez d'oxygène pour permettre le développement des bactéries.

Matras Pasteur (fig. 76). — Ces matras, vu leur commodité, n'ont pas tardé à détrôner complètement les autres vases de culture ; ils sont extrêmement commodes, et, malgré leur prix élevé, c'est à eux qu'on devra toujours donner la préférence pour les cultures dans les milieux liquides : ils ont été décrits pour la première fois dans la thèse de Chamberland. Ils se composent de petits ballons à fond plat ayant tout à fait l'apparence des petits flacons à densité : le col du ballon est bouché à l'émeri, à l'instar des lampes à alcool ; le bouchon est muni à la partie supérieure d'un petit tube permettant l'accès de l'air extérieur, et qu'on bouche avec de l'ouate.



FIG. 76. — Matras Pasteur.

Pour le remplissage du ballon, on procède de la façon suivante : quand on veut en emplir un certain nombre, on les dispose en rang le long d'une table, sur laquelle on met aussi une lampe à alcool et le ballon scellé, renfermant l'infusion organique. On a préparé et flambé d'avance une pipette en verre mince, dont le col porte aussi un tampon de coton et dont l'extrémité effilée est fermée à la lampe. On descelle, comme nous l'avons dit tout à l'heure, le col du ballon contenant l'infusion, on casse l'effilure de la pipette, on la passe dans la flamme et on remplit le réservoir par aspiration. Puis, enlevant successivement avec la main

gauche les bouchons à l'émeri de chaque matras, on y laisse couler de la pipette tenue de la main droite la quantité voulue de liquide, et on remet le bouchon, après l'avoir légèrement flambé. Dans ce transvasement, si l'opérateur est adroit et procède assez vite, les contaminations accidentelles ne dépassent pas 2 ou 3 p. 100.



FIG. 77. — Pipette de Chamberland.

Les pipettes Chamberland sont encore plus pratiques pour le remplissage des matras, si l'on a eu soin de conserver les liquides nutritifs dans ces appareils. Il y en a de deux sortes, la pipette simple (fig. 77) et le ballon-pipette (fig. 78). Pour remplir les matras avec ces instruments, on les incline légèrement, de façon que l'ouverture ne soit pas en haut, et l'on souffle par l'extrémité de la pipette ; on replace ensuite le bouchon avec les précautions indiquées plus haut.

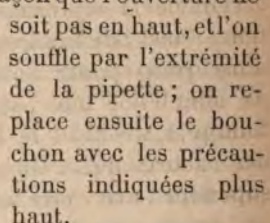




FIG. 78. — Ballon pipette de Chamberland.

Il est bon d'enduire les parties rodées du matras et de son bouchon avec de la vaseline, pour faciliter son débouchement rapide et moins s'exposer à le casser.

Tubes à boule de Miquel. — Miquel, pour ses recherches de microbiologie atmosphérique, se sert du tube à boule représenté dans la figure (79). C'est par la pointe A cassée, que se font les ensemencements, au moyen du fil de platine rougi, les prises et les additions de liquides au moyen de pipettes effilées et flambées ; l'air peut circuler librement dans la culture, grâce à la branche ouverte bouchée avec une bourre de coton du verre.



FIG. 79. — Tube à boule de Miquel, disposé pour les cultures.

Autres vases de culture. — Outre ces appareils, qui sont incontestablement préférables, on peut encore, pour faire des cultures à moins de frais, se servir de la verrerie usuelle dans les laboratoires. C'est ainsi qu'on pourra employer de simples petits ballons à fond plat, des tubes à essais ou des matras d'essayeur, dont on bouchera l'orifice supérieur avec une bourre de coton. Ici encore on devra suppléer à la perfection des appareils par un grand soin et beaucoup de dextérité. Nous pensons que, pour l'obturation de tous les appareils, il est bon de se servir de coton de verre, au lieu d'ouate ordinaire, ce qui permet d'élever les instruments à une température bien supérieure,

sans craindre de voir le tampon obturateur se carboniser.

Accessoires. — En dehors des étuves et des vases sus-énoncés, le matériel des cultures est peu considérable. Il consiste en instruments vulgaires, tels qu'aiguilles de platine, de verre, pinces en métal, etc.

Une mention spéciale, cependant, doit être faite pour les aiguilles de platine et les pipettes de verre. Les aiguilles de platine consistent en un gros fil de platine implanté à l'une des extrémités d'une baguette de verre ; ces aiguilles sont très commodes, car on peut à chaque instant les passer dans la flamme d'un bec Bunsen et les stériliser en les faisant rougir ; il est bon d'en avoir quelques-unes dont l'extrémité est en boucle, analogue aux fils dont on se sert pour les essais au chalumeau (fig. 80). Les Allemands appellent « öse » les fils ainsi munis d'une boucle.

FIG. 80. — Aiguille et boucle de platine

Les fils de platine servent à ensemencer les bouillons, avec une toute petite parcelle de substance à cultiver.

Les pipettes de verre sont de la dernière utilité pour les prises d'échantillons ; on les fabrique ordi-

nairement soi-même. Il faut les faire aussi longues que possible, et, pour cela, il faut procéder de la façon suivante : on prend du tube de verre analogue à celui qu'on utilise en chimie, pour faire les tubes abducteurs, puis on les étire en les chauffant dans la flamme du chalumeau. Pour faire bien l'effilure, il faut avoir soin, une fois le verre rougi, de le sortir de la flamme et de tirer brusquement en écartant les bras, car, si on l'étirait en le maintenant dans la flamme, on n'arriverait à aucun résultat.

Une fois l'effilure faite, on la ferme à la lampe, et l'on obture l'extrémité large des tubes avec une bourre de coton de verre, puis on les stérilise à l'étuve ; nous verrons plus loin comment on s'en sert pour prendre les échantillons à ensemencer.

FIG. 81. — Pipette de verre effilé.

2° Confection des bouillons de culture. — Les milieux de culture sont en nombre considérable, et ci ln' çoonot que chaque expérimentateur puisse les varier à son gré, suivant le but qu'il se propose d'atteindre ; aussi ne chercherons-nous pas à être complet et à décrire tous les bouillons qui ont été imaginés, et nous contenterons-nous d'indiquer les plus connus et les plus généralement employés.

Il y en a de trois sortes : 1° solutions minérales ; 2° solutions végétales ; 3° solutions animales.

1° *Solutions minérales.* — Elles ont été surtout utilisées au début pour des recherches théoriques, principalement par les auteurs qui se sont occupés des fermentations et de la putréfaction.

Solution de Pasteur. — Cette solution a été fabriquée par Pasteur, pour réduire à néant les théories de Liebig et de Frémy, et démontrer que, contrairement aux opinions émises par ces auteurs, la fermentation alcoolique pouvait se faire, et la levûre se développer dans un milieu totalement dépourvu de substances quaternaires.

Voici sa composition :

Eau distillée	100 p.
Sucre candi	10
Cendres d'un gramme de levûre	0,075

Elle fut ensuite modifiée de la façon suivante :

Eau distillée.	100 gr.
Sucre candi.	10
Cendres de levûre.	1
Carbonate d'ammoniaque.	1

Cette solution était plus propre au développement des moisissures et des levûres que des bactéries.

Liqueur de Cohn. — Elle fut modifiée de la façon suivante par Cohn :

Eau distillée.	100 gr.
Tartrate d'ammoniaque.	1
Cendres de levûre.	1

Solution de Cohn modifiée. — La solution de Cohn fut encore modifiée, et voici la formule nouvelle adoptée par l'auteur :

Eau distillée.	200 gr.
Tartrate d'ammoniaque.	20
Phosphate de potasse.	20
Sulfate de magnésie.	10
Phosphate tribasique de chaux.	1

Cette solution est particulièrement propre à la végétation du *Bactérium termo*, organisme commun de la putréfaction.

Liquide de Raulin. — Ce liquide a été fabriqué par Raulin, pour étudier l'influence des milieux sur le développement des végétaux inférieurs; il convient, d'après l'auteur, particulièrement à l'*aspergillus niger*.

Eau.	1.500 gr.
Sucre candi..	70
Acide tartrique..	4
Nitrate d'ammoniaque..	4
Phosphate d'ammoniaque..	0,6
Carbonate de potasse.	0,6
Carbonate de magnésie.	0,4
Sulfate d'ammoniaque..	0,25
Sulfate de zinc..	0,07
Sulfate de fer..	0,07
Silicate de potasse..	0,07

Les solutions minérales trouvent assez fréquem-

ment leur emploi, lorsqu'il s'agit d'isoler une espèce qui se trouve bien de ce milieu de culture, mais il faut avouer que, dans la plupart des cas, il vaut mieux avoir recours aux infusions organiques, ou tout au moins, les combiner avec ces dernières.

2° *Infusions végétales*. — L'usage de ces solutions se prête mieux à des applications multiples que les milieux purement minéraux ; on peut les confectionner avec les végétaux les plus divers. Il suffit d'examiner l'eau d'une mare pour voir avec quelle facilité ces infusions végétales peuvent nourrir les bactéries.

On peut les fabriquer avec les substances les plus diverses (décoction de fruits, de plantes, moût de bière). Tyndall a multiplié à l'infini le nombre de ces infusions végétales (infusion de choux, navets, poireaux, pruneaux, carottes, etc...). Mais l'infusion végétale la plus répandue est le bouillon de foin. On l'obtient en coupant du foin sec en petits fragments, qu'on place dans un vase métallique, puis on verse dessus une quantité d'eau bouillante suffisante pour le couvrir et le baigner largement. Lorsque l'infusion ainsi obtenue est refroidie, on la filtre. On peut aussi employer la décoction, c'est-à-dire, faire bouillir le foin coupé dans de l'eau, pendant plusieurs heures ; la composition sera alors un peu différente. Ces liqueurs de foin filtrées sont limpides et ordinairement acides ; elles peuvent servir, dans cet état, à la culture des mucédinées ; mais, pour les bactéries, il faut les neutraliser ou même les alcaliniser avec le

carbonate de soude. En tout cas, il faudra procéder à leur stérilisation aussitôt après leur préparation.

3° *Bouillons organiques animaux.* — Bien que les milieux de culture précédemment étudiés puissent rendre les plus grands services à l'occasion, les bouillons par excellence sont les liquides animaux naturels ou artificiels.

Leur base est ordinairement constituée par des décoctions de chair musculaire dégraissée, additionnées souvent de substances gélatineuses ou peptonisées, et placées dans un état d'acidité ou d'alcalinité variant avec les cas particuliers.

Voici le mode de préparation des principaux bouillons employés :

Bouillon Miquel. — Pendant cinq heures, on maintient à l'ébullition un kilogramme de chair musculaire maigre de bœuf, dans quatre litres d'eau. On écume le bouillon pendant toute la durée de l'ébullition. Une fois l'opération terminée, on laisse reposer, dans un endroit frais, jusqu'au lendemain, on dégraisse très soigneusement et on neutralise à la soude caustique. Cela fait, on le fait de nouveau bouillir pendant dix minutes, on filtre et on ramène au volume de quatre litres.

Pour le conserver, on le distribue dans des ballons d'un demi-litre, qu'on scelle à la lampe, et qu'on maintient pendant deux heures à 110°, pour le stériliser complètement. Ce liquide est alors coloré en jaune foncé, mais reste limpide et ne fournit jamais de dépôt : s'il vient à se troubler, cela est dû à un

mauvais dégraissage, ou à ce que la liqueur a été insuffisamment bouillie après la neutralisation. Ce bouillon à 20° possède une densité de 1,003 ; en y ajoutant 10 grammes de sel marin par litre, on obtient un bouillon, de densité 1,009, très sensible aux germes de l'atmosphère.

Bouillon Liebig.— On prend 50 grammes d'extrait de viande commercial, connu sous le nom d'*extractum carnis Liebig*, et on le dissout dans un litre d'eau. La dissolution effectuée, on neutralise à chaud par la soude caustique ; on fait bouillir, on filtre ; à ce moment, le bouillon doit être parfaitement neutre. Ce bouillon, stérilisé à 110°, fournit un dépôt blanc insoluble dans l'eau, facile à distinguer, au microscope, des bactéries et de leurs spores. Sous l'action de la lumière, ce liquide, pourvu, après sa préparation, d'une belle couleur rouge ambrée, se décolore et acquiert, à la longue, une teinte jaune pâle. Ainsi obtenu, le bouillon Liebig possède, à 18°, une densité égale à 1,024.

Bouillons divers. — On peut préparer des bouillons nutritifs avec des viandes diverses (veau, poulet, volailles). Il faut avoir soin d'enlever toute parcelle graisseuse et aponévrotique ; ces bouillons se préparent mieux avec la viande pulpée. Pour la volaille, on met les animaux entiers, débarrassés de leurs organes viscéraux. On met une quantité d'eau telle que le bouillon représente à peu près le poids de viande employé.

On fait bouillir pendant un temps variable suivant

le poids de viande (jamais moins de deux heures). On laisse reposer au frais, on filtre, on neutralise avec le carbonate de soude, on sale avec 1 ou 2 p. 100 de chlorure de sodium. Il est bon par précaution et pour avoir des bouillons bien limpides de faire bouillir et de filtrer une seconde fois après refroidissement. Il ne reste plus ensuite qu'à stériliser. (Voir plus loin.)

Bouillon de Fol. — Cet auteur emploie les mêmes décoctions de viande, mais recommande pour obtenir une plus grande limpidité, de les chauffer pendant une heure à 110° dans un autoclave et de les filtrer ensuite.

Bouillon de Loëffler. — Très employé au laboratoire de Koch. On fait macérer au frais pendant vingt-quatre heures dans un litre d'eau 500 grammes de viande de bœuf réduite en pulpe après avoir été soigneusement dégraissée et débarrassée du tissu conjonctif. Au bout de ce temps on exprime le tout à la presse, on ajoute de l'eau pour refaire un litre; et on additionne le liquide de 10 grammes de peptone sèche, 5 grammes de sel marin et, si l'on veut, quelques grammes de glucose. On alcalinise ensuite légèrement au carbonate de soude. Pour clarifier le liquide, on le chauffe dans un autoclave pendant deux heures, on laisse reposer vingt-quatre heures, on décante le liquide clair qu'on filtre une dernière fois après s'être assuré qu'il est toujours alcalin.

Parmi les bouillons que nous venons d'énumérer, le bouillon Miquel et celui de Loëffler sont ceux qui

donnent les meilleurs résultats ; entre les décoctions ordinaires de viande et le bouillon Miquel il n'y a en somme qu'une différence de densité ; ce dernier, d'une densité de 1,009 est surtout propre au rajeunissement des germes atmosphériques. Quant au bouillon Liebig, c'est de toutes les préparations la moins recommandable.

4° *Liquides organiques naturels.* — Ces milieux de culture sont éminemment favorables à la vie des bactéries pathogènes, puisqu'ils se rapprochent des milieux où vivent normalement ces micro-organismes. Les plus employés sont l'urine, le lait, l'humeur aqueuse de l'œil, le sérum. Ce dernier peut être retiré directement du liquide sanguin, mais on emploie avec avantage le liquide de l'hydrocèle, celui de la pleurésie ou de l'ascite ; ces derniers surtout sont faciles à se procurer en abondance.

3° **Manuel opératoire des cultures**. — 1° *Stérilisation des instruments et des vases de culture.*

a. Appareils de métal. — Les aiguilles à inoculations, ordinairement en platine, peuvent être facilement stérilisées en les chauffant directement dans la flamme d'un bec à gaz de Bunsen. Il suffit de chauffer au rouge sombre pour amener la stérilisation parfaite.

Lorsqu'il s'agit des instruments proprement dits, cette méthode si simple n'est pas applicable ; en effet, les pinces, ciseaux, couteaux, scalpels, sont en acier et le chauffage pratiqué dans ces conditions les détério-

rerait bien vite et les mettrait rapidement hors d'usage; la trempe disparaîtrait en même temps que les tranchants s'altéreraient. Pour les stériliser convenablement, on les place dans des boîtes spéciales construites tout en métal, hermétiquement closes; ces boîtes portent en Allemagne le nom de boite d'Israël. Cette boite (fig. 82) s'ouvre par une de ses extrémités,



FIG. 82. — Boîte d'Israël pour stériliser les instruments.

de sorte qu'on peut prendre un scalpel sans ouvrir le couvercle et risquer de contaminer tous les autres instruments. Pour bien stériliser les instruments d'acier, il est utile de les entretenir toujours dans un grand état de propreté et de brillant; en effet, les intruments qui ont servi, sont tachés par les résidus des objets qu'on a coupés ou piqués et la stérilisation carboniserait ces produits, mettant très vite l'instrument hors d'usage. Il est donc nécessaire de les passer au préalable sur un cuir saupoudré de brique anglaise, c'est là en quelque sorte une première *stérilisation mécanique*. On place ensuite les instruments dans la boîte à stériliser qu'on porte à l'étuve

sèche pendant deux heures entre 150 et 170 degrés centigrades.

b. Instruments de verre. — Pour les instruments de verre, c'est encore la chaleur qui est le meilleur procédé ; mais ici encore, avant de la faire agir, il faut procéder à un soigneux nettoyage. En effet, lorsque les vases de culture ont déjà servi, il reste à leur surface des matières organiques qui pourraient se carboniser et faire perdre au verre son immense avantage, la transparence. Si en effet le verre n'est pas d'une propreté parfaite, il deviendra très difficile d'apprécier le moment exact où un bouillon commencera à se troubler. En outre, il pourrait rester sur les parois du verre des substances solubles dans l'eau et indécomposables par la chaleur qui changeraient très notablement la composition du bouillon de culture. On commence par rincer les vases à l'eau chaude en les brossant extérieurement avec une brosse à ongles; une fois qu'ils sont bien égouttés, on y passe de l'acide sulfurique concentré qui carbonise les poussières et surtout les matières grasses. On les rince de nouveau à grande eau en finissant par un lavage intérieur à l'eau distillée ; ceci fait, on les laisse sécher à une douce chaleur, à l'abri des poussières de l'air.

Le flambage direct dans une flamme peut suffire dans certains cas, mais il est généralement défectueux, il expose à casser facilement les vases de culture et il faut toujours lui préférer la stérilisation à l'étuve. On bouche d'abord l'orifice de communication qui doit faire communiquer le vase avec l'air

extérieur; cette obturation se fait avec du coton cardé (ouate), avec de l'amiante ou du verre filé (coton de verre), ces deux dernières substances possèdent l'avantage d'être incombustibles, mais elles ne bouchent pas tout à fait aussi bien. Ce tampon obturateur doit également être stérilisé, mais comme il est en général peu volumineux, sa stérilisation s'accomplit en même temps que celle du vase où il est placé. On place les vases de verre ainsi bien lavés et bouchés dans l'étuve à stériliser qu'on allume aussitôt. Si l'on s'est servi d'amiante ou de coton de verre, on peut laisser monter sans inconvénient la température jusqu'à 300°; si l'on se sert d'ouate ordinaire on ne peut guère dépasser 170°. On reconnaît que ce point est atteint, lorsqu'au bout de deux heures d'exposition le coton a pris une couleur havane, légèrement brunâtre. De toute façon, l'action de la chaleur, pour assurer une stérilisation parfaite, doit toujours être prolongée deux ou trois heures au moins.

Pour cette opération, il est inutile d'employer un thermomètre, il suffit d'empêcher la température de monter quand le coton commence à roussir, cependant l'emploi d'un thermo-régulateur sera toujours préférable quoique moins expéditif.

Si les appareils contiennent autre chose que du verre ou du métal, par exemple des bouchons ou du caoutchouc, on devra recourir à la stérilisation par la vapeur d'eau à 100° au moyen du stérilisateur de Koch, décrit plus loin; bien que cette méthode soit moins sûre, elle peut encore servir en employant la méthode dite du *chauffage discontinu*.

Il est très utile que, dans toutes ces manipulations, l'opérateur ait les mains d'une propreté rigoureuse; il faut les laver avec une brosse et du savon, les passer dans une solution de sublimé et les rincer avec de l'eau stérilisée.

Toutes ces précautions ne sont pas de trop, et on ne saurait trop insister sur la nécessité d'une stérilisation absolument parfaite. Toutes les causes d'erreur, tous les mécomptes, proviennent d'un défaut de stérilisation des appareils ou de la malpropreté des mains de l'opérateur et des instruments, la contamination par l'air étant beaucoup moins importante.

2° *Stérilisation des bouillons de culture.*

Deux procédés peuvent être employés pour stériliser les bouillons de culture. L'un se passe du secours de la chaleur (stérilisation à froid); il consiste en une filtration sur des corps poreux dont les interstices sont assez ténus pour retenir les plus fines spores de bactéries.

L'autre procédé (stérilisation à chaud) consiste à détruire par la chaleur les bactéries et les germes pouvant préexister dans les bouillons.

On peut aussi adopter une méthode mixte pour les recherches très délicates, commencer par la filtration et terminer par une stérilisation à chaud.

A. *Stérilisation à froid.*

Ce procédé est devenu réellement pratique depuis les travaux de Miquel et de Chamberland; il est à espérer qu'il se perfectionnera par la suite et qu'il se

substituera à la stérilisation à chaud qui est moins expéditive et à laquelle on peut reprocher d'introduire souvent dans les milieux de culture des modifications chimiques dont la nature reste inconnue de l'expérimentateur.

Méthode du filtre Chamberland (fig. 83). — Cet appareil sera surtout employé pour l'obtention de l'eau stérilisée; mais, en changeant un peu son dispositif, il pourra également servir à la stérilisation d'un bouillon de culture quelconque.

Il est formé essentiellement par un cylindre de biscuit de porcelaine constituant la *bougie filtrante*.

Cette bougie est placée dans un cylindre plus grand, en cuivre, à la partie inférieure duquel elle est solidement fixée par un fort écrou; le joint est rendu parfaitement étanche par une rondelle de caoutchouc. A sa partie supérieure il peut se visser directement sur le robinet qui amène l'eau.

Si l'on veut stériliser des bouillons de culture, on dispose l'appareil de manière à ce que l'ajutage B soit en communication avec le ballon stérilisé où on conservera le bouillon, et dans lequel on fait le vide au moyen d'une trompe. Le liquide arrive dans le cylindre et, soit par pression, soit par aspiration, il traverse les pores de la bougie de biscuit en abandonnant tous ses germes et toute particule solide.

Après chaque opération, on devra nettoyer la bougie, et la placer à l'étuve à 200° pour la stériliser de nouveau.

A défaut de filtre Chamberland, on peut fabriquer

soi-même un appareil similaire. A est un petit vase

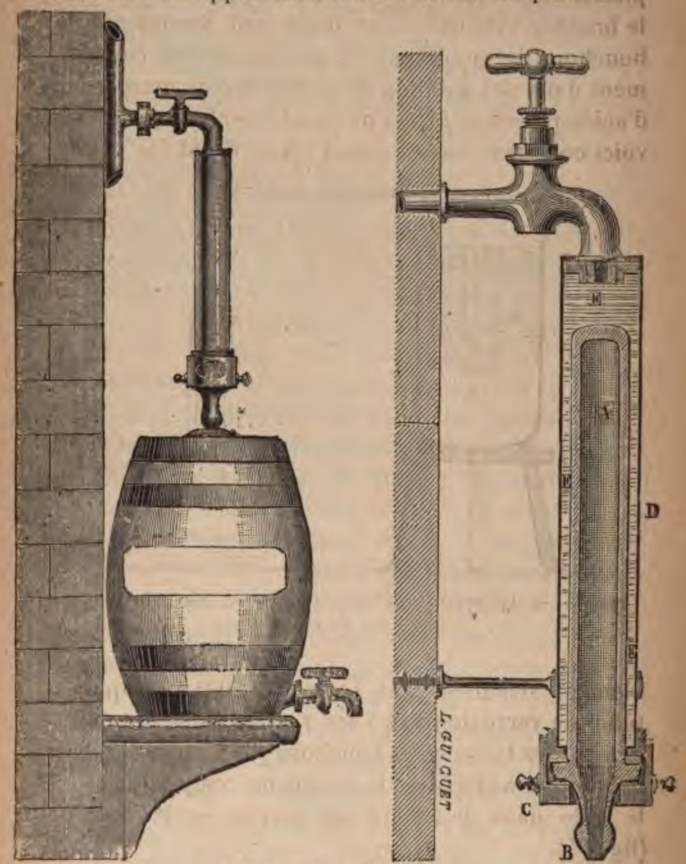


FIG. 83. — Filtre Chamberland.

poreux tel que ceux employés habituellement dans les

piles à deux liquides, C est le ballon où l'on conservera le bouillon stérilisé; tous deux sont fermés par des bouchons de caoutchouc rouge séjournant constamment dans une solution de bichlorure de mercure ou d'acide phénique fort. Pour pratiquer une opération, voici comment on s'y prend : A et C ont été préala-

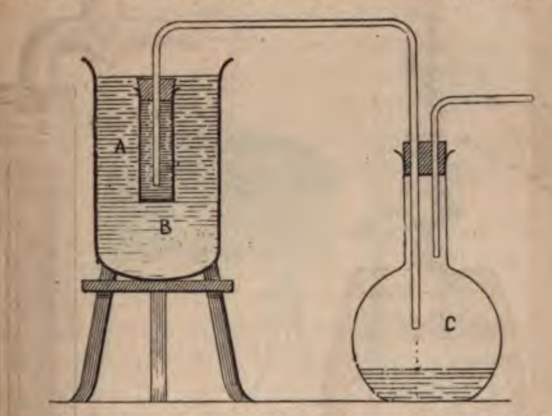


FIG. 84. — Appareil simplifié pour la filtration à froid des bouillons de culture.

blement stérilisés dans l'étuve à 200° ainsi que les tubes de verre destinés à les réunir. On adapte rapidement les tubes et les bouchons et on plonge A dans le bouillon à stériliser B, en même temps qu'on fait le vide dans le ballon au moyen de la trompe (fig. 84).

Une fois le remplissage opéré on ferme le ballon à la lampe au niveau d'un étranglement qu'on a pratiqué d'avance, puis on abandonne le bouillon à 15 ou

20° pendant plusieurs jours. Il doit se maintenir limpide.

Procédé de Miquel. — Un ballon à col long et légèrement conique est étranglé à son tiers inférieur (voir en A fig. 85). Au-dessous de l'étranglement,

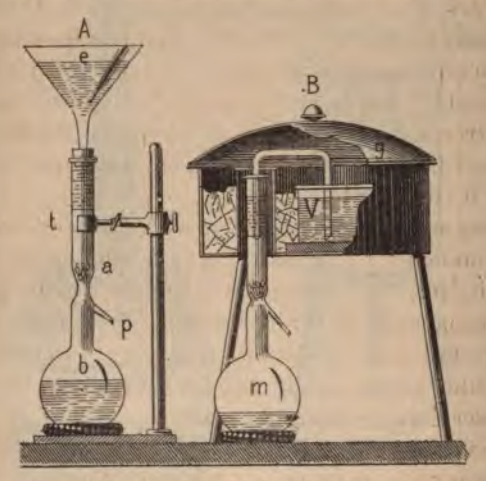


FIG. 85. — Filtration à froid sur du plâtre (procédé de Miquel).

on étire à la lampe une pointe capillaire effilée, P, de 0m,05 à 0m,06 de longueur ; au-dessus de ce même étranglement, on dispose une bourre d'amiante convenablement serrée, *a*, sur laquelle on coule une couche de plâtre gâché, *t*, de 0m,07 à 0m,08 de hauteur. L'appareil ainsi préparé est séché pendant une ou deux semaines à l'étuve maintenue à 40°, puis porté

lentement à une température comprise entre 170° et 180°. Cette dernière chauffe a pour but : 1° de détruire les germes répandus à la surface interne du ballon, ceux apportés par la bourre d'amiante, le plâtre et l'eau employée au gâchage ; 2° de recuire le plâtre, c'est-à-dire de le ramener à l'état de sulfate de chaux anhydre. En prenant la simple précaution de sceller la pointe capillaire P du ballon avant de le soumettre à la température élevée de 170° à 180°, il n'est pas admissible que la moindre poussière puisse jamais pénétrer dans les parties de l'appareil séparées du contact direct de l'atmosphère par le tampon de plâtre dont il vient d'être parlé.

Pour mettre en marche l'appareil filtrateur stérilisé, on commence par imbiber d'eau le tampon de gypse recuit, qui, sous l'action de ce liquide, s'hydrate avec un dégagement de chaleur sensible à la main. Cette humectation préalable a l'avantage de rendre plus parfaite l'adhérence du filtre au tube de verre et de chasser l'air des pores du plâtre.

Le filtre convenablement imbibé, la pointe latérale de l'appareil est flambée, cassée et plongée dans un matras d'eau stérilisée à 110°. Par une dilatation ménagée on chasse 40 c. c. à 50 c. c. d'air du ballon, qui, après refroidissement, sont remplacés par un égal volume d'eau microscopiquement pure.

Cette eau, portée à l'ébullition et vaporisée rapidement, s'échappe par la pointe latérale capillaire sous la forme d'un jet de vapeur sifflant et continu ; au bout de cinq minutes, la majeure partie de l'air du ballon est remplacée par de la vapeur d'eau, et il ne

reste plus qu'à sceller la pointe capillaire P, ce qui n'offre aucune difficulté. La vapeur, en se condensant, produit un vide considérable : aussi les sucs ou liquides à stériliser amenés dans la tubulure de l'ap-

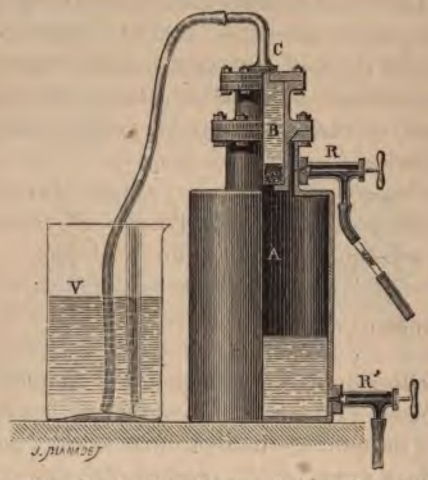


FIG. 86. — Procédé de Miquel pour la filtration à froid. Appareil disposé pour pouvoir opérer sur une grande quantité de substance.

pareil pénètrent-ils dans le ballon B en suintant à travers le plâtre.

Pour fabriquer le *bouchon filtrant*, on procède de la façon suivante (Benoist), on prend :

Eau	46
Plâtre à mouler.	52
Amiante.	2
Total	100

L'amiante est délayée dans l'eau, et le plâtre incorporé petit à petit dans le magma semi-fluide qui en résulte.

Ce procédé présente un certain nombre d'inconvénients. Le filtre de plâtre se dissout en fortes proportions dans le liquide filtré, surtout si celui-ci est salé; il en résulte des vides qui détériorent le filtre et rendent son action inutile. De plus, les bouillons chargés de sulfate de chaux sont moins propres à la culture des bactéries.

Il faudra donc donner la préférence aux filtres en biscuit de porcelaine dont l'usage est commode et dont la substance est tout à fait insoluble.

B. Stérilisation a chaud.

Ebullition simple. — Ce moyen si simple et si pra tique réussit dans un grand nombre de cas et à l'origine M. Pasteur n'employait pas d'autre méthode; mais l'on n'a pas tardé à reconnaître que si les bactéries adultes étaient toujours détruites par la température d'ébullition de l'eau (100°) les spores de ces bactéries pouvaient, au contraire, résister plusieurs heures et échapper à ce moyen de stérilisation. Cette méthode restera cependant applicable dans les cas où une chaleur excessive pourrait altérer les liquides de culture; c'est d'ailleurs pour conserver cette stérilisation à 100° que Tyndall a inventé sa méthode du chauffage discontinu dont nous parlerons plus loin. Cette méthode par ébullition simple sera applicable toutes les fois qu'on aura à stériliser un petit volume

de liquide, par exemple des tubes à essais : on peut employer soit un bain-marie dont on maintient le niveau constant, soit une étuve de Gay-Lussac, soit un poêle à vapeur de Koch.

Chauffage sous pression. — Cette méthode de stérilisation exige que les vases qui renferment les bouillons de culture soient assez résistants, et fermés à la lampe d'émailleur, ou tout au moins suffisamment obturés pour supporter une pression de deux atmosphères. Trois procédés sont en usage pour surchauffer les bouillons de culture, les autoclaves, les bains de chlorure de calcium, la méthode de la cuve profonde.

Quel que soit le procédé mis en usage, il faudra atteindre une température oscillant entre 110 et 115° C. et il reste entendu, que ce procédé de stérilisation est inapplicable aux substances qui seraient susceptibles d'altération à cette température.

Autoclaves. — Les autoclaves sont des instruments à parois résistantes, construits pour supporter des pressions de 3 à 5 atmosphères. On les munit habituellement d'un manomètre à cadran système Bourdon, sur lequel on ajoute une division thermométrique ; ils possèdent toujours une soupape de sûreté qu'on peut régler suivant la pression et la température maxima qu'on se propose d'atteindre. Ils sont chauffés au gaz au moyen d'un ensemble de brûleurs Bunsen. Les vases de culture contenant le liquide à stériliser sont fermés à la lampe d'émailleur, et immergés dans l'eau contenue dans l'appareil au

fond duquel ils sont maintenus par un couvercle percé de trous.



FIG. 87. — Autoclave de Chamberland.

Le meilleur des autoclaves est sans contredit celui qui a été construit par Wiesnegg sur les indica-

tions de Chamberland (fig. 87). Il est muni sur le couvercle d'un robinet qu'on peut ouvrir, de sorte qu'on peut s'en servir comme poêle à vapeur ordinaire pour la stérilisation à 100° et pour le chauffage discontinu.

L'expérience a montré que pour obtenir rapidement une égalité de température entre les ballons et le liquide ambiant, il fallait éviter la présence de l'air dans l'appareil, de là, les règles suivantes. On immerge les ballons dans l'eau froide, on les maintient sur le fond et on allume ; on met aussitôt le couvercle, mais on a soin de laisser le robinet ouvert, l'air s'échappe avec la vapeur et on ferme le robinet quand on juge qu'il a été entièrement expulsé. Dans ces conditions l'équilibre de température se fait généralement assez vite ; mais il est bon de maintenir le thermomètre à 115° pendant au moins trois heures pour être sûr d'une stérilisation parfaite.

Les autoclaves ne sont pas applicables aux milieux solides pour des raisons que nous exposerons plus loin ; leur emploi se limite donc à la stérilisation des bouillons ; de plus, ils sont fort coûteux, on a donc cherché à les remplacer.

Bain-marie au chlorure de calcium. — Cette manière de procéder est sans doute moins commode que les autoclaves, mais elle a pour elle la modicité de son prix de revient, et la facilité de son application. En effet, elle n'exige pas, à la rigueur, d'appareils spéciaux ; cependant les expérimentateurs en ont fait construire quelques-uns, c'est ainsi qu'il en existe chez Wiesnegg deux modèles, l'un de 6 bal-

lons, l'autre de 12 (fig. 88). Lorsqu'on en aura un plus grand nombre, on aura recours au bain de chlorure de calcium employé par Miquel dans lequel on peut introduire un nombre considérable de ballons à stériliser. Miquel recommande beaucoup cette méthode simple et peu coûteuse, ses inconvénients sont les suivants : au sortir du bain de



FIG. 88. — Bain-marie à chlorure de calcium.

chlorure de calcium, les ballons doivent subir un grand nettoyage qui expose à la casse et nécessite une grande perte de temps. Le bain de chlorure de calcium est à l'air libre et il en résulte que l'équilibre n'existe plus entre la pression intérieure des ballons et la pression extérieure ; aussi arrive-t-il souvent que des vases éclatent sous la force élastique du bouillon surchauffé. Cet inconvénient est faible et est en grande partie évité si l'on n'emploie que des vases parfaitement sphériques, dont la résistance excentrique est bien plus parfaite.

Quoi qu'il en soit de ces petits inconvénients, c'est là un bon procédé de stérilisation, si l'on a soin de maintenir la température du bain à 110° pendant deux heures.



FIG. 89. — Méthode de la cuve profonde pour élever le point d'ébullition des liquides.

Méthode de la cuve profonde. — Cette méthode a été imaginée autrefois par Pasteur au moment de ses recherches sur les fermentations, elle est décrite dans ses *Etudes sur la bière*, p. 46. Elle consiste à adapter au col d'un ballon qui contient le bouillon de culture un tube de verre plongeant dans une cuve profonde à mercure du genre de celles dont on se sert en physique pour l'étude de la force élastique des vapeurs (fig. 89). On conçoit que plus le tube plongera dans le mercure, plus la température d'ébullition s'élèvera.

Cette méthode peut rendre des services dans un certain nombre de cas particuliers, mais elle est peu expéditive, aussi reste-t-elle exceptionnelle et n'est-elle pas entrée dans la pratique courante.

Méthode du chauffage discontinu. — Cette ingénieuse méthode est due au professeur Tyndall ; on pourrait presque dire du chauffage dis-

continu, qu'il doit être la méthode de choix, car c'est celle qui permet l'application la plus large et au plus grand nombre de cas. Voici ses avantages : elle est très économique, elle ne nécessite l'emploi d'aucun appareil spécial, le plus vulgaire bain-marie pouvant servir à la rigueur. Elle permet de stériliser tous les liquides qui se coaguleraient ou s'altéreraient par une chaleur excessive; de plus elle donne d'excellents résultats, et en ce qui concerne, tout au moins, les bouillons de culture, son application est d'une facilité enfantine. Elle repose sur ce principe que les bactéries adultes sont toujours tuées par une température de 75° centigrades et voici comment on en fait l'application. Lorsqu'un liquide quelconque a été chauffé à 100°, les bactéries adultes sont tuées, il reste les spores; celles-ci se développent et deviennent adultes; si on chauffe de nouveau, celles-ci sont tuées; au bout de plusieurs opérations semblables, répétées chaque jour, on conçoit qu'il ne reste plus trace de bactéries ni de spores de bactéries; le liquide est alors parfaitement stérile.

En pratique, on le voit, aucune méthode n'est plus simple; elle consistera à chauffer le bouillon de culture à 75° plusieurs jours de suite pendant une à deux heures. Nous avons nous-même expérimenté ce procédé; il nous a donné des résultats excellents, et nous avons pu ainsi conserver pendant des mois des bouillons d'une admirable clarté et gardant toutes leurs propriétés culinaires et nutritives. Voici comment je conseille de procéder. Une fois le bouillon fabriqué, on le place dans des petits ballons à long col d'en-

viron 200 à 250 centimètres cubes de capacité, en ayant soin qu'il y ait du liquide seulement dans la partie sphérique. On ferme le col à la lampe, et, au moyen d'un support, on suspend le ballon au milieu d'un vase contenant de l'eau qu'on chauffe progressivement à l'ébullition. Quand celle-ci a été maintenue une heure environ on éteint le gaz, l'on recommence le jour suivant et ainsi de suite *pendant cinq jours*. On peut ainsi conserver des bouillons stérilisés parfaitement limpides pendant des mois.

Je ne saurais trop recommander cette méthode du chauffage discontinu, méthode par excellence des petites installations et des bourses modestes, et cela d'autant mieux, que les résultats obtenus sont aussi brillants qu'avec les appareils les plus perfectionnés.

3° *Remplissage des vases. — Epreuve des bouillons. — Régulation de l'étuve.*

Une fois les vases de culture bien stérilisés, les bouillons convenablement préparés, il faut procéder au remplissage des vases où s'effectueront les cultures et en faire l'épreuve préliminaire. Chaque vase se remplit d'une manière spéciale, suivant sa forme, et nous avons indiqué rapidement, à propos de chacun d'eux, comment devait s'effectuer le remplissage. En général, cette opération doit se faire le plus vite possible, et c'est de toutes les manipulations bactériologiques celle qui exige le plus d'adresse et de dextérité. La facilité avec laquelle on pourra l'effectuer jouera sans contredit un grand rôle dans le choix des vases de culture et c'est ce qui a déterminé

Miquel dans le choix de son tube à boule, cet expérimentateur ayant à se protéger surtout des causes d'erreurs venues de l'atmosphère.

Voici comment s'effectue le remplissage du tube à boule (fig. 90) :



FIG. 90. — Remplissage des tubes à boule.

Les tubes à boule chauffés et refroidis, on peut immédiatement procéder à leur remplissage. Les

ballons contenant les liqueurs nutritives sont ouverts, débarrassés de leur col aussi bas que possible, puis inclinés de façon à conduire le liquide au bord de l'ouverture, où on le puise avec la pointe flambée et cassée des petits ballons comme avec une pipette; l'instrument à demi plein, on scelle immédiatement sa pointe à la flamme d'un bec Bunsen.

Ces ballons soufflés ayant environ 50 centimètres cubes de capacité, 0 lit. 5 de liquide stérilisé suffit amplement pour en charger 20 à 25. Durant cette opération, une seule porte reste ouverte aux germes des bactéries. A mesure que le vase se vide, l'atmosphère s'y introduit lentement, pour remplacer le liquide retiré par aspiration, en entraînant avec elle plusieurs germes, qu'elle dépose à la surface de la liqueur. Aussi, sur cent conserves préparées avec un bouillon éminemment altérable, on observe, au laboratoire de Montsouris, quatre à cinq cas d'infection par les microbes, ayant pénétré dans les conserves par cette voie ; ce qui constitue, au total, un déchet relativement peu élevé.

Une fois toutes ces opérations terminées, et les vases remplis de bouillon stérilisé, il faut s'assurer qu'aucune cause accidentelle n'est venue adultérer le milieu stérile et rendre faux le résultat qu'on se propose d'atteindre.

On procède, pour cela, à une épreuve préliminaire des bouillons de culture. Cette épreuve repose sur la conservation de la limpidité des bouillons, malgré une exposition prolongée à l'étuve incubatrice. Cette épreuve amènera presque toujours la perte d'un

certain nombre de vases, mais cette perte sera d'autant plus faible que les stérilisations préalables auront été plus parfaites, et que l'habileté de l'opérateur sera plus grande.

L'épreuve préalable aura un autre but, non moins important, car on en profitera pour régler la température de l'étuve au degré voulu : comme cette épreuve se prolongera au moins quinze jours, on aura pour cela tout le temps désirable.

Ce terme de quinze jours, pour l'épreuve des bouillons, est généralement suffisant, bien que Miquel ait vu des cultures ne commencer à se troubler qu'après un mois et plus, de séjour à l'étuve.

4° *Ensemencement des cultures. — Mise en culture.*

L'ensemencement ou inoculation d'un bouillon de culture se fait soit avec une pipette capillaire flambée, soit avec un fil de platine muni d'une boucle (öse), préalablement stérilisé. L'instrument est plongé dans le bouillon stérile, assez vite pour éviter toute contamination par l'air ou les mains de l'opérateur.

La culture est rebouchée, et il ne reste plus qu'à la porter à l'étuve, où l'on va surveiller avec soin son incubation.

5° *Etude des cultures.*

L'étude d'une culture comporte l'examen macroscopique et l'examen microscopique. On aura soin de noter le moment exact où le bouillon se troublera, l'aspect que prendra ce bouillon dans sa profondeur ou à sa surface, ainsi que les circonstances imprévues qui pourront se présenter au cours de l'expérience.

Il restera ensuite à procéder à l'examen histologique et à l'expérimentation sur les animaux, s'il est nécessaire, opérations que nous ne saurions exposer ici sous peine de redite.

C. Cultures en milieux solides, ou méthodes de Koch.

Les cultures par les méthodes de Koch nécessitent dans leur application les mêmes manipulations générales que les méthodes de Pasteur; cependant, en raison de la nature toute spéciale du sol où se fait la culture, l'appareil instrumental est notablement différent.

1°. — **Instruments**. — a. *Etuves et stérilisateurs*. Les détails dans lesquels nous sommes entrés, à propos des cultures en milieux liquides, nous dispenseront d'insister de nouveau, ici, sur les appareils incubateurs. En effet, outre que les incubateurs sont beaucoup moins employés dans les méthodes de Koch, les modèles d'étuves applicables aux bouillons de culture trouvent leur emploi dans les cultures sur milieux solides. Nous venons de dire que l'emploi des étuves incubatrices était plus restreint; expliquons-nous: en ce qui concerne les cultures sur gélatine, soit en tubes, soit en plates cultures, la température à laquelle on élève les bouillons serait trop forte et ferait liquéfier le sol de culture; il suffit de laisser la plupart du temps ces cultures dans une chambre dont la température est douce et uniforme, il n'est

donc point besoin d'appareils spéciaux pour ce genre de culture; les cultures sur pommes de terre peuvent souvent aussi se dispenser des étuves à incubation.

Il n'en est plus de même pour les appareils destinés à la stérilisation des sols de culture, et l'on a, ici, besoin d'instruments tout à fait spéciaux. La stérilisation des instruments se fait de la même façon que pour les méthodes de Pasteur ; ce sont toujours des objets de métal ou de verre, qu'on doit porter à une température suffisante pour détruire tous les germes qui peuvent s'y trouver; aussi les étuves sèches décrites plus haut sont-elles de tous points utilisables ; mais, lorsqu'il s'agit de stériliser les milieux solides et, en particulier, certaines gelées nutritives, les méthodes brutales, qui conviennent pour les bouillons, sont inapplicables, car ces substances ne résisteraient guère à une température un peu élevée et se décomposeraient.

En règle générale, la température de stérilisation ne doit pas dépasser 100° centigrades, c'est dire, que la méthode étudiée plus haut, sous le nom de *chauffage discontinu*, sera ici surtout la méthode de choix.

Stérilisateur à vapeur (fig. 91). — La température de 100°, que nous venons d'indiquer comme température maxima, fait penser de suite à utiliser l'eau bouillante comme moyen de chauffage ; en effet, par l'ébullition à ciel ouvert, on est sûr que la température ne dépasse pas le degré voulu. Les divers bains-marie ne sont pas très recommandables, quoiqu'ils puissent suffire, à la grande rigueur, car

ils offrent de sérieux inconvénients. En effet, grâce à l'action refroidissante de l'air, la température d'un

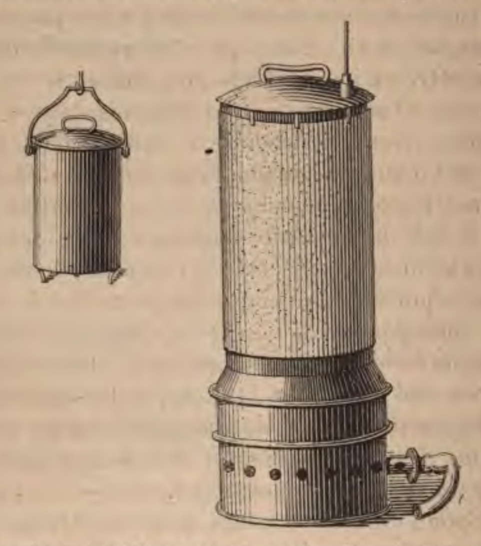


FIG. 91 — Stérilisateur à vapeur (modèle de Wiesnegg).

bain-marie subit d'assez grandes oscillations, et l'expérience a montré qu'il fallait beaucoup plus de temps pour stériliser la même quantité de substances dans un bain-marie que dans un poêle à vapeur, où la matière à stériliser est placée au milieu de la vapeur d'eau à la même température.

Le stérilisateur à vapeur se compose d'un cylindre de tôle, de fer-blanc ou de zinc, avec un fond en cuivre ; il a un diamètre de 25 à 30 centimètres et une hauteur d'environ 50 centimètres. Cette sorte de

poêle est monté sur des pieds, pour permettre l'installation de becs Bunsen, à sa partie inférieure ; sa partie supérieure est munie d'un couvercle possédant une poignée et un orifice qui permet d'installer un thermomètre. L'appareil est entouré, ainsi que son couvercle, d'une épaisse couche de feutre ou d'amiante, pour empêcher la déperdition du calorique. A l'intérieur du poêle, vers le tiers inférieur, est placé un diaphragme, en forme de grille, qui divise le cylindre en deux compartiments : un inférieur, chambre à eau, et un supérieur double en volume, chambre à vapeur. Un tube en verre, établi sur le côté, permet de voir le niveau de l'eau dans le compartiment inférieur, qui doit être rempli à peu près aux deux tiers. Les appareils à stériliser sont descendus sur le gril, placés dans un panier en fil de fer, lorsque l'eau est en ébullition. Ce poêle à vapeur ne sert pas seulement à stériliser, il est aussi utilisé pour différents usages, par exemple pour la filtration à chaud de l'agar-agar, pour la cuisson des pommes de terre, etc...

Le stérilisateur à vapeur est un très bon instrument ; son prix est modique, la température n'y varie que très peu et l'absence de toute organisation compliquée fait qu'il se détériore difficilement, et qu'on peut avoir confiance dans les résultats qu'il donne.

Le poêle à vapeur doit être préféré, pour les cultures en milieux solides, à tous les autoclaves, bains surchauffés de chlorure de calcium, etc..., car la haute température à laquelle on les porte altère

notablement les sols à base de gélatine, qui, au bout de quelque temps, finissent par perdre la propriété de se figer par le refroidissement. Les cultures à l'agar-agar seules peuvent supporter la température de 110° sans s'altérer.

Stérilisateur de sérum. — La stérilisation du sérum se fait toujours par la méthode du chauffage discontinu, et elle ne demanderait pas d'appareils spéciaux, s'il n'était nécessaire de faire le chauffage discontinu à une température relativement basse, et en conservant un maximum rigoureux. En effet, si l'on dépasse le degré voulu, le sérum perdra sa transparence et sera hors d'usage. Un bon stérilisateur de sérum devra donc remplir les deux conditions suivantes : maintien dans l'intérieur d'une température uniforme et régulation possible de la chaleur, qui devra rigoureusement atteindre un certain degré sans le dépasser. L'appareil que nous décrivons plus loin et employé pour gélatiniser le sérum peut servir également à sa stérilisation ; mais on préfère, en général, se servir d'appareils spéciaux.

L'appareil suivant est un des plus employés (fig. 92) ; il se compose d'une caisse cylindrique à doubles parois formant bain-marie. La partie supérieure est fermée par un couvercle également creux, présentant un prolongement latéral que l'on peut chauffer.

Le couvercle est percé de trois trous disposés pour recevoir trois thermomètres, l'un plongeant dans l'atmosphère intérieure du stérilisateur, le deuxième

dans le liquide du couvercle et le troisième dans le liquide du bain-marie. Le liquide employé peut être



FIG. 92. — Stérilisateur de sérum. Modèle allemand.

de l'eau, mais il est préférable d'utiliser la glycérine ordinaire qui ne s'évapore pas. L'appareil est monté sur des pieds et entouré d'une enveloppe de feutre pour empêcher toute déperdition du calorique.

L'intérieur de l'étuve est divisé en plusieurs compartiments, destinés surtout à soutenir les tubes contenant le sérum et à les empêcher de tomber les uns sur les autres.

Cet appareil a reçu diverses modifications, entre autres du constructeur Wiesnegg, soit sous forme

d'étuve à température fixe obtenue par le moyen de thermo-régulateurs, soit sous forme de bain-marie, appareil plus simple et plus pratique muni du régula-

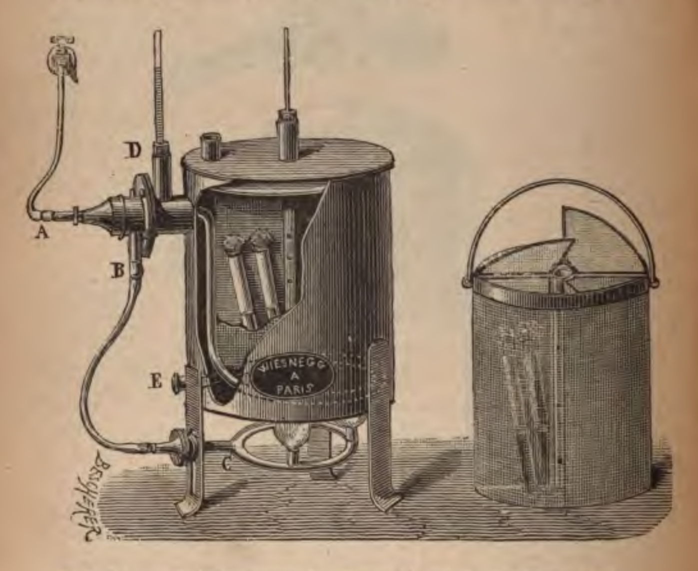


FIG. 93. — Stérilisateur de sérum (modèle de Wiesnegg).

teur à membrane de d'Arsonval et dans lequel les tubes à sérum plongent directement dans l'eau portée à la température voulue (fig. 93). Nous décrirons plus loin le manuel opératoire nécessité par la stérilisation du sérum.

b. *Vases de culture et accessoires.*

La substance nutritive étant en quelque sorte beau-

coup plus condensée que dans les bouillons; en règle générale, on peut employer des vases de culture beaucoup plus petits et opérer sur des quantités de matière beaucoup plus faibles.

Tubes à essais. — Tandis que, dans les méthodes de Pasteur, les tubes à essais rendent peu de services en raison de leur instabilité, ici au contraire ce sont les vases par excellence; ce sont ces tubes qui se prêtent le mieux aux cultures sur gélatine, soit en surface, soit en profondeur, et aux cultures sur sérum gélatinisé et agar-agar. Les tubes à essais (fig. 94) sont ceux qu'on emploie en clinique pour l'analyse des urines; il est bon cependant de les prendre un peu larges d'ouverture (15 à 20 millim. de diamètre) et moins longs que ceux employés d'ordinaire en chimie ; c'est moins encombrant et l'ensemencement est plus facile.

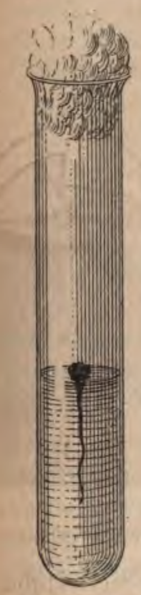


FIG. 94. — Tube à essai disposé pour la culture sur gélatine-peptone.

Godets de verre. — Ces godets de verre ont été utilisés d'abord par Koch pour la culture du bacille de la tuberculose sur le sérum (fig. 95); ils sont formés d'un bloc de verre plus large que haut, de forme carrée et creusé à son centre d'une cavité hémisphérique; la face supérieure est bien dressée et bien polie, elle reçoit un petit carré de glace. Ces godets

se font en verre blanc ou en verre noir, certaines colonies étant spécialement plus apparentes, soit sur fond transparent, soit sur fond noir. Ces godets qui ont l'avantage de la stabilité présentent pourtant certains inconvénients: ils tiennent beaucoup de place

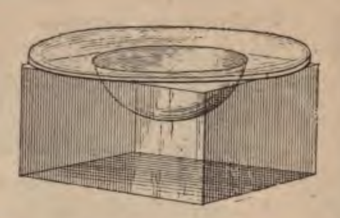


FIG. 95. — Godet de verre pour cultures.

et leur obturation est très imparfaite ; la petite lame de glace qui les recouvre se dérange très facilement, et on est exposé par cela même à de fréquents ensemencements par l'air.

Plaques de verre. — La culture sur plaques est surtout employée pour le *triage des germes*, et elle rend pour cela de très utiles services, bien que de toutes les méthodes ce soit celle qui expose le plus aux ensemencements accidentels par l'atmosphère. On choisira des lames de verre aussi planes et aussi exemptes de défauts que possible, d'une épaisseur analogue à celle des lames porte-objet utilisées en histologie. Les dimensions de la plaque devront être choisies telles que, avec le microscope que l'on possède, on puisse facilement examiner toute la surface

de la lame. C'est dire que, d'une façon générale, les plaques de culture devront être plus longues que larges. Les plaques employées pour la photographie dites 1/4 de plaque, dimensions 9 centimètres sur 12, sont très convenables pour cet usage. Comme les plaques gélatinées doivent être posées à plat, il est nécessaire de se munir de petits chevalets pour les séparer et pouvoir les empiler verticalement sans qu'elles se touchent. L'on trouve dans le commerce



FIG. 96. — Petits bancs de verre pour ranger les plaques dans les chambres humides.

des petits bancs en verre propres à cet usage, mais on peut en fabriquer soi-même avec des plaques de zinc plus larges que les plaques de verre dont on dispose, et dont on recourbe perpendiculairement les deux extrémités en forme de petit banc. On peut aussi avoir une série de petites barres de métal dont on place une à chaque bout de la lame de verre, de telle sorte qu'elles peuvent être ainsi facilement empilées (fig. 96).

Flacons d'Erlenmeyer. — Ce sont des matras coniques (fig. 97) qui présentent l'avantage d'être, grâce à leur forme, accessibles en tous leurs points à l'aiguille ou à la pipette qui va ensemencer ou faire une prise d'échantillon. On les emploie surtout pour

les cultures sur purée de pommes de terre. Leur orifice est obturé avec un tampon d'ouate et ils sont

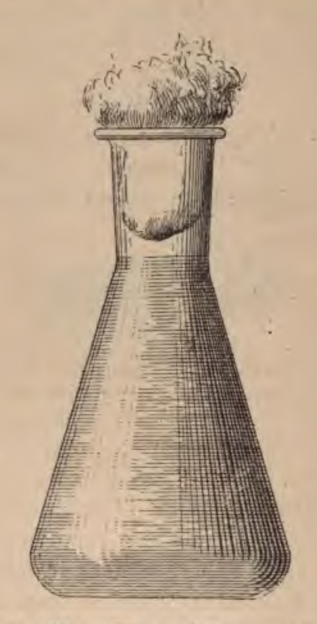


FIG. 97. — Flacon d'Erlenmeyer.

alors stérilisés par les procédés ordinaires. Les flacons d'Erlenmeyer sont les vases de culture les plus usités dans le laboratoire de Koch.

Chambres humides. — Ces chambres humides (fig. 98 et 99) sont indispensables pour les cultures sur plaques et sur pommes de terre; elles sont très faciles

à fabriquer et peuvent se composer simplement de deux cuvettes en verre d'inégale dimension, dont la

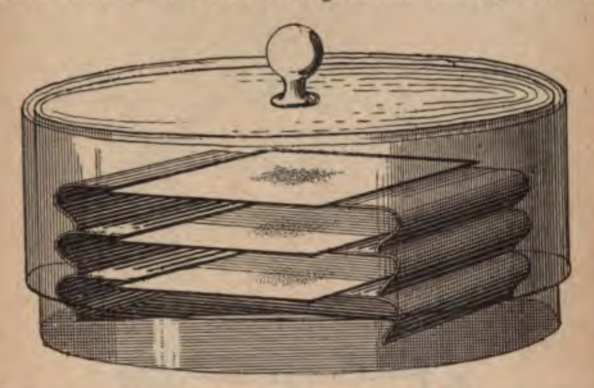


FIG. 98. — Chambre humide disposée pour la culture sur plaques.

plus grande peut recouvrir la plus petite en guise de couvercle. Le fond est garni d'une feuille de papier filtre humecté avec de l'eau stérilisée ou d'une solution de sublimé à 1 p. 1,000.

Accessoires. — Je ne répéterai pas ici ce que j'ai dit des diverses aiguilles utilisées pour l'étude bactériologique ; outre les instruments indispensables dont j'ai déjà parlé plus haut, il faut encore avoir une petite brosse pas trop dure pour procéder au nettoyage extérieur des pommes de terre, des scalpels et des couteaux spécialement destinés à couper les pommes de terre. Pour ces dernières, il est inutile d'employer des couteaux de forme particulière ; les plus vulgaires couteaux de table ou de cuisine rem-

plissent très bien l'office. On aura soin de les entretenir toujours propres et tranchants et de les stéri-

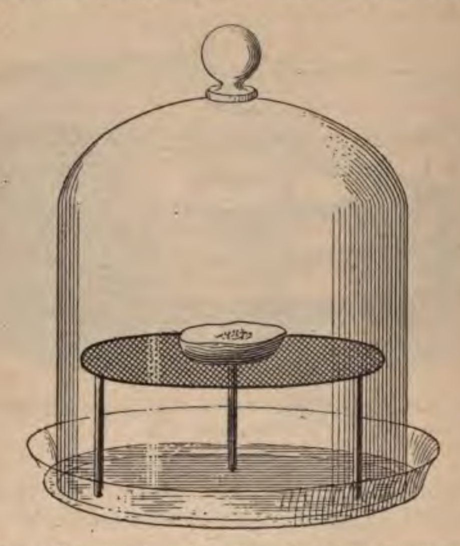


FIG. 99. — Chambre humide disposée pour la culture sur les pommes de terre.

liser convenablement au moment de s'en servir en les passant dans la flamme d'un bec Bunsen.

2° **Confection des milieux de culture.** — *Gélatine peptonisée.* — La gélatine peptonisée est l'un des milieux de culture les plus usités pour les méthodes en milieux solides, surtout pour cultures en tubes et cultures sur plaques. Sa fabrication repose sur le fait de la *gélatinisation*, c'est-à-dire de la trans-

formation en gelée transparente des différents bouillons usités dans les méthodes de Pasteur, dont nous avons donné plus haut la composition par une quantité minime de gélatine pure.

Tous les bouillons dont nous avons donné la préparation peuvent servir de base ou de véhicule à la gélatine peptonisée ; on peut, par exemple, se servir d'urine neutralisée et stérilisée ou d'extrait de viande Liebig.

Büchner a proposé la composition suivante :

Eau.	1 litre.
Gélatine pure . . .	100 gr.
Extrait Liebig . . .	5
Peptone sèche. . .	5
Sucre de canne . .	2
Phosphate basique .	5

Mais parmi tous ces bouillons, ceux auxquels on devra sans contredit donner la préférence sont les bouillons que j'appellerai naturels, c'est-à-dire fabriqués avec la viande en nature. On peut employer soit le bouillon de viande de Miquel (voyez p. 245), soit le macéré de viande de Loëffler (p. 247). Une fois que ces liquides ont été convenablement préparés, on procède à leur gélatinisation et à la confection définitive du milieu nutritif.

On prend un litre du bouillon qu'on a choisi et on y ajoute:

Peptone sèche pure. . . .	10 gr.
Sel marin ordinaire. . . .	5

D'autre part, dans un vase bien propre (ballon,

capsule de porcelaine), on a placé 100 gr. de gélatine bien pure et bien blanche qu'on a au préalable grossièrement concassée en petits fragments; on recouvre cette gélatine avec de l'eau stérilisée, de façon à ce qu'elle soit seulement recouverte par le liquide.

La meilleure gélatine est une gélatine française, qui se vend en paquets bleus d'un demi-kilogramme à marque dorée; elle est dite dans le commerce « gélatine blanc-manger ».

Au bout de 20 à 30 minutes, la gélatine est imbibée par le liquide et a subi un ramollissement très notable. Alors on fait écouler soigneusement tout l'excès de l'eau, et, après avoir bien fait égoutter, on verse sur la gélatine le bouillon peptonisé et salé. On place le tout au bain-marie et on fait dissoudre à une douce chaleur, en agitant constamment le liquide et en prenant soin que la température ne s'élève pas au delà de 40 à 45 degrés, car une température excessive finit par modifier la gélatine, au point qu'elle peut ne plus se coaguler par le refroidissement. Ainsi préparée, la gélatine-peptone a ordinairement une réaction franchement acide peu favorable à la culture de la plupart des bactéries, aussi faut-il la neutraliser et même pour certains cas l'alcaliniser. Pour cela, on se sert d'une solution saturée de carbonate de soude qu'on ajoute goutte à goutte, en ayant soin à chaque instant de vérifier la réaction au moyen d'un papier de tournesol, et on continue jusqu'à ce qu'on provoque une tache faiblement bleue, couleur mauve ; si l'on avait ajouté trop de liqueur

alcaline, il faudrait neutraliser dans l'autre sens avec un peu d'acide lactique.

A ce moment, le bouillon gélatinisé n'est ordinairement pas transparent et il contient encore des substances qui pourraient se précipiter ou se coaguler au moment de la stérilisation; il faut alors le soumettre à une ébullition prolongée, jusqu'à ce que les précipités soient complètement formés. Pour cela, on se sert d'un bain-marie à 100° centigrades où on laisse la gélatine-peptone pendant une heure. Une fois la précipitation terminée, il faut filtrer le bouillon. En raison de la coagulabilité du milieu nutritif, cette opération est assez difficile et doit être faite à chaud, et l'expérience doit être disposée de telle sorte que le liquide ne puisse se refroidir pendant toute la durée de la filtration, généralement assez longue.

Pour obtenir ce résultat, les auteurs et les constructeurs ont imaginé un certain nombre de procédés et d'appareils ordinairement fort simples: c'est ainsi qu'on peut se contenter d'un ballon qui supporte dans son col un entonnoir ordinaire en verre portant un filtre à plis en papier, le tout étant placé dans le poêle à vapeur. Nous avons insisté plus haut sur les inconvénients d'un chauffage prolongé de la gélatine, qui lui fait perdre sa propriété de se coaguler à froid, aussi devra-t-on veiller de toute façon à ce que la température s'élève seulement de quelques degrés au-dessus du point nécessaire à la fluidification de la gélatine. Aussi est-il préférable de ne pas employer le stérilisateur à

vapeur et de se servir des appareils spéciaux pour la filtration à chaud, appareils dans lesquels on peut très facilement modérer et régler la température.

Le plus simple et le moins coûteux de ces appareils est celui du Dr Ferrari, de Madrid (fig. 100), fa-



FIG. 100. — Appareil pour la filtration à chaud.

briqué à Paris par la maison Wiesnegg ; il se compose d'un entonnoir en cuivre ou en fer-blanc, dans lequel on peut adapter un entonnoir en verre qui contient la substance à filtrer; l'espace formé par la double paroi entre les deux entonnoirs contient de l'eau que l'on peut chauffer au moyen d'un prolon-

gement latéral en forme de tube qui supporte aussi un entonnoir destiné à remplacer l'eau qui s'évapore.

Le même constructeur a perfectionné cet appareil et lui a donné la forme représentée par la figure 101,



FIG. 101. — Appareil perfectionné de Wiesnegg pour la filtration de la gélatine.

perfectionnement excellent, car il permet le transvasement direct et facile de la gélatine dans les tubes de culture sans souiller l'orifice de ces tubes.

De toute façon, avec l'un quelconque de ces appareils, il faut toujours munir l'extrémité de l'enton-

noir d'une pince de Mohr ou d'un robinet et d'un tube de verre assez long si l'on veut transvaser directement la gélatine dans les tubes à essai ; je reviendrai, d'ailleurs, plus loin, sur ces précautions.

La gelée filtrée devra prendre une transparence parfaite *à froid* et l'on devra, si cette transparence n'est pas obtenue, recourir à plusieurs filtrations successives ; j'ai dit *à froid* avec intention, car il faut savoir que souvent la gélatine chaude est trouble, grâce à la présence de phosphates que la chaleur précipite et qui se redissolvent complètement par le refroidissement. Si, malgré tout, on ne pouvait obtenir un milieu transparent, on pourrait tenter de battre la gélatine avec un blanc d'œuf et filtrer de nouveau après avoir porté au bain-marie à 100° pendant un quart d'heure; et si, après tous ces traitements, la gélatine-peptone était encore trouble, il ne resterait plus qu'à la sacrifier et à recommencer l'opération avec d'autres produits.

Agar-agar ou *gélose*. — Les cultures sur la gélatine présentent l'inconvénient assez sérieux de ne pouvoir se faire qu'à la température ambiante, car à 25° centigrades les milieux gélatinisés se liquéfient et, se transformant en bouillons, perdent tous les avantages des cultures sur milieux solides. On a comblé cette lacune par l'emploi de l'agar-agar, dont l'introduction en bactériologie est due au Dr Hesse, un des collaborateurs de Koch.

L'agar-agar se trouve dans le commerce sous forme de plaques membraneuses ou écailleuses ; ces plaques ne sont autres qu'une substance mucilagi-

neuse extraite de quelques espèces d'algues marines communes sur les côtes du Japon et dont les principales portent les dénominations botaniques de *Gracilaria lichenoïdes* et *Gigartina speciosa*. Cette substance mucilagineuse ou d'autres analogues existent d'ailleurs dans la plupart des algues marines, mais l'agar-agar provient surtout des espèces que nous avons désignées.

La préparation des gelées nutritives à l'agar-agar est identique à celle des gelées à la gélatine; elle ne diffère que par les proportions et quelques détails pratiques. L'agar-agar doit être découpé par petits morceaux ou être employé en poudre. On commence par faire tremper l'agar-agar dans l'eau simple, ou mieux dans l'eau salée, pendant toute une nuit, pour faciliter sa dissolution ultérieure; puis, après l'avoir bien égoutté, on l'ajoute dans un bouillon convenablement choisi (ceux que l'on emploie pour la gélatine peptone sont également utilisables ici). Tandis qu'il faut 10 p. 100 de gélatine pour gélatiniser un bouillon de culture, on ne doit employer que des proportions beaucoup plus minimes d'agar-agar; les proportions convenables sont de 1 à 2 p. 100, et, en somme, on peut préconiser la formule suivante :

Bouillon neutralisé........	1 litre.
Agar-agar................	10 à 20 grammes.
Peptone sèche............	10 —
Sel marin................	5 —

On commence par ajouter le sel et la peptone au

bouillon, puis on met l'agar-agar, qu'il faut alors faire dissoudre. Cette dissolution est beaucoup plus longue et beaucoup plus laborieuse que celle de la gélatine, et elle n'est généralement complète que par une ébullition prolongée à feu nu pendant quatre ou cinq heures, en ayant soin de remplacer le liquide évaporé avec de l'eau stérilisée, de façon à conserver toujours le volume d'un litre. La dissolution de l'agar-agar se fait beaucoup plus rapidement dans l'autoclave à 110°.

Ordinairement, la dissolution ainsi obtenue est neutre; on peut l'employer telle quelle ou l'alcaliniser avec une solution de carbonate de soude saturée,

Le filtrage des gelées à base d'agar-agar est long et difficile, il est cependant indispensable. On peut ici sans inconvénient se servir du poêle à vapeur, car on n'a pas à redouter l'action de la chaleur sur la gélatinisation ultérieure du produit, l'agar-agar supportant sans s'altérer aucunement, des températures beaucoup plus élevées que la gélatine. Les filtres au bain-marie précédemment décrits sont aussi excellents. Il est rare, malgré tout le soin qu'on peut y mettre, qu'on obtienne des gelées tout à fait claires et transparentes, mais en prenant les précautions suivantes, on peut cependant arriver à un résultat satisfaisant. On commence par faire une première filtration avec un cône de feutre, ou en garnissant avec de l'ouate la moitié inférieure de l'entonnoir, puis on filtre une seconde fois à travers un double filtre en papier placé dans un entonnoir dont le fond est garni de coton de verre.

Il est encore un procédé plus commode, quoique moins productif, puisqu'on est obligé de sacrifier une partie du produit ; il consiste à verser la gelée liquide dans de longues éprouvettes de verre qu'on abandonne ensuite à un refroidissement progressif dans le poêle à vapeur. Après une nuit entière la gelée est solidifiée, et, en frappant sur les parois, on parvient à la faire sortir sous forme de boudins, dont on tranche facilement pour être éliminée, la partie qui n'est pas suffisamment transparente.

Agar à la glycérine. — Nocard et Roux ont donné la formule d'un milieu de culture formé d'agar additionné de glycérine : il se prépare facilement en additionnant la gelée nutritive de 6 à 10 p. 100 de glycérine pure et neutre. Ce milieu nutritif est particulièrement favorable pour la culture du bacille de la tuberculose, et doit être préféré au sérum gélatinisé.

Miquel fabrique un milieu analogue à l'agar-agar au moyen du *fucus crispus;* ce procédé est spécialement destiné à la numération des bactéries atmosphériques.

Sérum gélatinisé. — Nous avons dit plus haut que le sérum du sang était particulièrement apte à servir de milieu de culture pour certaines espèces bactériennes, principalement pour celles qui sont parasitaires ; mais nous n'avons pas insisté sur ce procédé, nous réservant d'en parler surtout ici ; car le sérum liquide est peu employé, et on se sert surtout du sérum dit gélatinisé, préparé par la méthode de

Koch. C'est au moyen de cette préparation, que ce savant a réussi pour la première fois à obtenir des cultures pures du bacille de la tuberculose.

Manière de recueillir le sérum. — Le procédé le plus expéditif pour recueillir du sérum, serait sans contredit celui qui a été employé par Pasteur, pour démontrer que le sang pris dans les vaisseaux, et mis en contact seulement avec de l'air pur de tout germe microbien, ne s'altère jamais; nous l'avons décrit ailleurs. En se servant de ce procédé, on pourrait avoir du sérum indemne de toute bactérie, si l'on a pris les précautions voulues, et on s'éviterait ainsi les ennuis de la stérilisation; mais il faut bien avouer qu'il est rare qu'en suivant cette méthode, un certain nombre de vases ne s'altèrent pas, grâce à des contaminations qui se font pendant les transvasements consécutifs. Cornil pense cependant, que le petit nombre de tubes altérés ne doit pas faire rejeter cette manière de faire, car d'après lui, l'économie de temps qui en résulte, compense largement la perte de quelques tubes de sérum. Quoi qu'il en soit, Koch, inventeur des cultures sur sérum gélatinisé, ne se sert pas de ce procédé expéditif et il préfère, en toute occasion, avoir recours à la stérilisation, qui, si elle est souvent longue et fastidieuse, a au moins l'avantage d'être une méthode sûre et rigoureuse. Voici le procédé employé par Koch pour recueillir le sérum :

On peut prendre le sérum d'un animal de boucherie quelconque, mais généralement le sang de mouton est préféré, en raison de la rapidité beaucoup plus

grande avec laquelle il subit la gélatinisation. On commence par stériliser très soigneusement les vases destinés à recueillir le sang; ces vases se composent de flacons bouchés à l'émeri, à large ouverture et de la capacité de 1 litre environ, mais beaucoup plus longs que larges. Une fois qu'on a choisi l'animal et qu'il est fixé, on rase soigneusement la partie latérale du cou; la région est ensuite désinfectée avec une solution forte de sublimé; puis avec un scalpel stérilisé on dénude une grosse veine ou une grosse artère. On recueille ensuite le sang directement, tel qu'il jaillit du vaisseau sectionné, après avoir laissé perdre les premières portions ordinairement souillées par des poils ou des fragments de tissus.

On remplit les vases jusqu'au bord, et on les bouche soigneusement, après avoir pris la précaution d'enduire le bouchon de paraffine ou mieux de vaseline, pour que le flacon puisse s'ouvrir facilement et sans secousse. Ceci fait, on porte les flacons dans la glace, où on les laisse 48 heures, en ayant soin de ne pas les remuer pour que le caillot soit très dense, et que le sérum qui surnage ne soit pas souillé par les globules rouges, qui lui feraient perdre sa principale qualité, la transparence.

Le sérum bien préparé doit être bien fluide, absolument clair, et d'une belle coloration ambrée. Une fois la coagulation du sang bien achevée, on soutire le liquide séreux avec une pipette stérilisée de Chamberland ou de Pasteur (fig. 77 et 78) et on le distribue dans les tubes où se feront les cultures.

Une fois cette distribution opérée, il ne reste plus

qu'à stériliser et à gélatiniser le sérum dans les différents vases où on l'a placé; ces opérations ne pouvant se séparer, nous les décrirons ensemble plus loin, lorsque nous exposerons la manière générale de procéder à la stérilisation des milieux de culture solides (page 305). Disons cependant de suite qu'un sérum gélatinisé de bonne qualité doit avoir la consistance du blanc d'œuf coagulé, une coloration ambrée et une transparence aussi parfaite que possible. Il arrive presque toujours qu'à la partie inférieure de la surface inclinée du sérum gélatinisé, il s'accumule quelques gouttes de liquide; ce n'est pas là un vice de fabrication et c'est une circonstance heureuse, car ce liquide est également nutritif et l'on peut ainsi, dans un même tube, observer une culture à la fois sur un milieu solide et sur un milieu liquide, si l'on prend soin d'inoculer le tube à sa partie supérieure en même temps que le liquide.

Cultures sur pommes de terre. — Les pommes de terre stérilisées constituent un excellent milieu de culture pour beaucoup de bactéries; elles sont surtout employées pour les bactéries chromogènes; elles sont cependant employées pour d'autres, et nous verrons, par exemple, que les micro-organismes de la fièvre typhoïde trouvent sur la pomme de terre un milieu très favorable à leur développement.

L'aspect des cultures sur pommes de terre est souvent caractéristique, et suffit pour le diagnostic de l'espèce dans un grand nombre de cas.

Pour préparer les pommes de terre, on choisit des espèces à surface lisse, à peau unie, sans trop d'an-

fractuosités : l'espèce dite pomme de terre de Hollande est très convenable. On les nettoie d'abord au moyen d'une petite brosse un peu dure, après les avoir laissé tremper dans l'eau ; ceci fait, avec un couteau on enlève les yeux, les bourgeons et les parties altérées, puis on met les tubercules à tremper dans une solution de sublimé à 5 p. 1000 ; on les y laisse une heure. On procède ensuite à leur cuisson ; on se sert pour cela d'un petit seau en fer-blanc (fig. 91) muni d'une anse, on y place les pommes de terre et on le suspend dans le stérilisateur à vapeur pendant un temps variant de vingt à trente minutes. Une fois qu'elles sont cuites, on les laisse refroidir, on retire le vase de l'étuve, on le ferme avec le couvercle et on y conserve les pommes de terre jusqu'au moment de s'en servir.

On prépare des chambres humides analogues à celles que nous avons décrites à propos des cultures sur plaques ; elles ont été bien nettoyées au préalable et stérilisées par lavage avec la solution de sublimé. On place à sa portée des couteaux à pommes de terre et des scalpels stérilisés.

Confection de la culture. — On relève les manches de son habit et on commence par se laver les mains au savon noir et à l'eau chaude ; puis on les trempe un instant dans une solution de sublimé. Entre le pouce et l'index de la main gauche on saisit une pomme de terre, puis de la main droite le couteau, que l'on passe encore une fois dans une flamme par surcroît de précaution. On divise alors le tubercule

en deux parties, de façon à obtenir la plus grande surface de coupe possible. Un aide ouvre la chambre humide et on y dépose rapidement la pomme de terre en écartant les deux morceaux avec le couteau. On procède de la même façon pour une seconde pomme de terre, sans oublier de changer de couteau à chaque tubercule, de façon que l'on a ainsi quatre moitiés de pommes de terre que nous désignerons par les chiffres 1, 2, 3, 4.

On se lave de nouveau les mains avec les mêmes précautions et on pratique l'ensemencement comme il suit :

On saisit de la main gauche la moitié de pomme de terre n° 1 en évitant de toucher la surface de coupe. On maintient cette surface de coupe verticale et sur son milieu on porte avec une aiguille stérilisée une partie de la substance qu'on veut ensemencer. Avec un scalpel stérilisé manœuvré à plat, on étend le mieux qu'on peut la substance sur la surface de coupe sans aller jusqu'au bord, et on replace rapidement le morceau dans la chambre humide. Avec un autre scalpel stérilisé on prend sur la surface n° 1 un peu de substance qu'on étale par le même procédé sur la pomme de terre n° 2, puis on répète la même opération jusqu'au n° 4, de sorte que chaque fragment arrive à contenir de moins en moins de bactéries; ceci fait, on referme soigneusement la chambre humide.

Ces formes de culture peuvent être faites à la température ordinaire du laboratoire; parfois il faut les placer à l'étuve.

Une fois la culture obtenue pure, on ensemence

les autres pommes de terre, en formant des raies avec une aiguille chargée de la matière qu'on veut cultiver.

Les pommes de terre peuvent encore être utilisées sous une autre forme, pour les cultures en *pâte* ou *purée* ; celles-ci se préparent avec des tubercules pelés d'avance et bouillis dans l'eau.

La purée est placée en couche mince au fond de matras Pasteur (fig. 76) ou mieux de flacons d'Erlenmeyer (fig. 97). Les cultures de pâte de pommes de terre sont avantageuses, car elles se prêtent facilement à l'incorporation d'autres substances nutritives, telles que sucre, peptone, bouillons de viande, etc.

3° **Manuel opératoire des cultures.** — 1° *Stérilisation des vases de culture.* — D'une manière générale, la stérilisation des vases et instruments employés pour les cultures sur substances solides ne diffère pas sensiblement des procédés employés pour stériliser les objets similaires dans les cultures par les méthodes de Pasteur. C'est toujours la chaleur prolongée un temps suffisant et à un degré convenable qui restera la base même de toute stérilisation des appareils ; cependant la nature même des objets employés nécessite une série de manipulations supplémentaires et, pour certains, des opérations toutes spéciales.

Tubes d'essai. — Ces tubes d'essai sont dans les cultures par les méthodes de Koch les plus employés de tous les vases, leur petit volume, la modicité de leur prix les font d'ailleurs recommander comme les

plus pratiques. Ils ne le cèdent pas non plus aux autres vases pour la facilité de leur stérilisation. Cette opération s'exécute en plaçant les tubes d'essai munis d'une bonne bourre de coton dans de petits paniers en fil de fer où ils sont dans la situation verticale, mais pas trop serrés les uns contre les autres pour permettre la libre circulation de l'air chaud.

Ainsi arrangés, ils sont abandonnés dans le stérilisateur à air chaud pendant quatre heures environ à une température de 160° à 170° centigrades. La température est convenable lorsqu'on voit roussir légèment les bourres de coton.

On peut aussi stériliser les tubes d'essai un par un; cette méthode de procéder est applicable aux cas où l'on n'a qu'un petit nombre de tubes à stériliser. On commence par enfoncer la bourre de coton de quelques millimètres dans le tube pour qu'elle ne prenne pas feu; puis on saisit le tube avec une pince en bois et on le fait aller et venir en tous sens dans l'intérieur de la flamme d'un bec Bunsen ou du chalumeau. On peut par ce procédé extrêmement simple arriver à une stérilisation parfaite et sans grand attirail; mais je répète que ce procédé est assez lent, et ne sera applicable que si le nombre des tubes à stériliser est restreint. Une fois les tubes stérilisés on les enferme dans des bocaux ou mieux dans des grandes boites en fer-blanc où on les conserve à l'abri de la poussière.

Lorsque les tubes dont on se sert ne sont pas neufs et ont déjà été utilisés pour des cultures précédentes, il faut avant de procéder à leur stérilisation les net-

toyer sérieusement pour les débarrasser de toutes les parcelles de gélatine ou autres substances, qui, au moment du chauffage, se carboniseraient et mettraient le tube hors d'usage. Il faut d'abord leur faire subir un nettoyage mécanique intérieur et extérieur avec un fil de fer portant un pinceau de crin à son extrémité; puis on les maintient quelques heures dans l'eau très chaude. Lorsqu'on juge que le nettoyage est suffisant, on les passe une dernière fois à l'eau distillée, on les laisse égoutter, on les fait sécher à l'air, l'orifice en bas et on les munit alors de leur bourre de coton.

Flacons d'Erlenmeyer. — La stérilisation de ces flacons s'opère comme celle des tubes d'essai, mais ici, à cause de leur volume, le chauffage direct sur la flamme n'est plus pratique et la stérilisation à l'étuve doit être seule employée, après qu'ils ont été lavés, séchés et munis d'une bonne bourre d'ouate.

Godets de verre. — L'instabilité du couvercle de ces petits godets fait que l'on ne peut songer à les stériliser d'avance, car on s'exposerait à les voir presque sûrement se contaminer à l'air; aussi doit-on toujours les stériliser au moment de s'en servir. La stérilisation se fait toujours dans la flamme d'un bec Bunsen où l'on passe plusieurs fois le godet et son couvercle. On enduit ce dernier avec un peu de vaseline au moment de le remettre, pour permettre une adhérence plus intime, pendant le refroidissement entre les deux parties de l'appareil.

Plaques de verre. — La stérilisation des plaques de verre est assez simple et doit toujours être faite

au moment de l'usage, vu la difficulté de conserver quelque temps ces plaques tout à fait à l'abri des poussières atmosphériques. On commence par un nettoyage mécanique et chimique, c'est-à-dire qu'après avoir nettoyé la surface du verre par des frictions énergiques avec une poudre inerte (tripoli, blanc d'Espagne) mouillée d'eau, on les place dans un bain d'acide chlorhydrique concentré ; on les lave ensuite à grande eau et l'on termine par un rinçage à l'alcool et à l'éther. La stérilisation proprement dite se fait par la chaleur et se pratique en enfermant les glaces nettoyées dans une boîte en fer (fig. 102) que l'on place dans l'étuve à air chaud où on les laisse deux heures exposées à la température habituelle de stérilisation (160° à 170° centigrades). On peut aussi

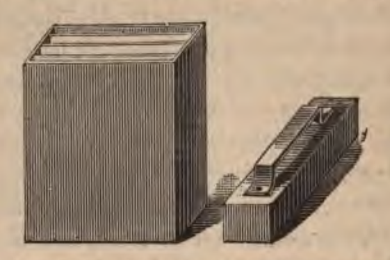


FIG. 102. — Boîte en fer pour la stérilisation des plaques destinées aux plates-cultures.

procéder à une stérilisation plus rapide en flambant les deux faces de la plaque de verre dans la flamme d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool. Les plaques sont ensuite déposées sur une feuille de papier propre, et recouvertes d'une cloche de verre pour les proté-

ger contre les poussières atmosphériques. Les plaques refroidies sont prêtes pour l'ensemencement.

Chambres humides. — Les chambres humides, fabriquées comme je l'ai dit plus haut, demandent aussi à être stérilisées ; mais ici on peut se contenter d'un bon nettoyage antiseptique. On nettoie la cuvette et son couvercle à grande eau d'abord, puis avec une solution de sublimé à 1 p. 1000.

2° *Remplissage des vases. Préparation des cultures.* — Nous avons vu, en étudiant les procédés de culture imaginés par Pasteur, que les bouillons destinés à servir de milieu nutritif aux bactéries, pouvaient être stérilisés en bloc et d'avance, puis conservés ensuite pour l'usage ; c'est là, sans contredit au point de vue de l'économie du temps, un procédé en tous points préférable, car on a ainsi toujours sous la main du bouillon stérilisé prêt à être mis en culture. Le peu de fluidité des substances gélatinisées et la complication un peu plus grande de leur manipulation rendent cette manière de faire inapplicable et la stérilisation doit avoir lieu dans le vase même où se fera la culture, c'est pourquoi nous nous occuperons d'abord du remplissage des vases.

Dans le remplissage des tubes d'essai avec les gelées nutritives, il faut éviter surtout de répandre le milieu de culture dans les parties supérieures où l'on doit mettre la bourre d'ouate, car il pourrait arriver ainsi plusieurs inconvénients ; les tampons se colleraient au verre et deviendraient fort difficiles à retirer ; de plus, on pourrait ainsi créer des cultures au con-

tact de l'air où se développeraient des bactéries qui, en liquéfiant la gélatine, tomberaient dans la culture pure et la mettraient hors d'usage. En dehors de cette remarque générale, la distribution des gelées nutritives peut se faire sans grandes précautions, puisque la stérilisation ne sera faite qu'ultérieurement. Pour transvaser les milieux gélatinisés, on peut se servir de l'appareil qui a servi pour la filtration, et qui est muni à cet effet d'un long tube qui peut plonger jusqu'au fond du vase de culture et d'une pince de Mohr, faisant office de robinet; on peut aussi faire usage d'un petit entonnoir à long bec ou d'une pipette ordinaire.

On verse de la gelée, environ 3 ou 4 centimètres de hauteur et après qu'on s'est assuré que la paroi n'est pas souillée, on replace le tampon d'ouate et on met les tubes, soit dans un ratelier, soit dans le petit panier de fil de fer où ils devront subir la stérilisation. Pour les godets et les flacons d'Erlenmeyer, il n'y a pas à proprement parler de précautions spéciales à prendre, sauf celle indiquée plus haut de ne pas répandre de gelée nutritive en d'autres points du vase que celui où doit végéter la culture.

Pour le sérum gélatinisé, la distribution en tubes se fait au moyen d'une pipette Chamberland, alors que le sérum est encore fluide.

3° *Stérilisation et confection définitive des sols de culture.* — Nous avons ici affaire à des sols de culture qui ne peuvent en aucune façon, se prêter aux températures élevées, aussi la méthode du chauffage dis-

continu est-elle la seule qui soit pratique, et véritablement c'est à l'usage des sols nutritifs gélatinisés qu'elle doit sa généralisation en bactériologie. On peut cependant faire une exception pour l'agar-agar, qui peut être stérilisé dans l'autoclave à 110° centigrades.

Cette méthode due à Tyndall, et généralisée par R. Koch, a été l'objet, malgré ses avantages incontestables, d'attaques assez vives : Miquel surtout l'a violemment critiquée, comme d'ailleurs tout ce qui émane de Tyndall.

D'après lui, les germes du sérum, car c'est surtout ce milieu qu'il attaque, la stérilisation se faisant dans l'espèce à une température très basse (58° centigrades) ne sont pas encore éclos pour la plupart au bout de sept jours, et il n'y aurait qu'une stérilisation apparente ; le développement ne se fait pas parce que les germes manquent d'air pour les faire vivre ; d'autre part, il ne manque pas de bactéries adultes qui ne sont pas tuées par une température de 58° et même 70°. Sans doute, l'objection de Miquel est de haute valeur, et en théorie, on ne peut convenir qu'il n'ait raison ; mais, en pratique, les choses sont tout autres et il est un fait certain, c'est que des tubes stérilisés par le chauffage discontinu et placés à la température d'incubation restent parfaitement stériles, tandis qu'en vingt-quatre heures ils sont attaqués, si on y introduit une bactérie étrangère.

Tout en reconnaissant la valeur des objections faites à cette méthode de stérilisation, nous pensons qu'elle doit cependant être conservée, et en ce qui concerne les milieux gélatinisés, force nous est bien de l'em-

ployer, puisque c'est la seule applicable ; sans elle, en effet, plus de cultures sur milieux solides. Les attaques de Miquel proviennent évidemment de son peu d'enthousiasme pour les cultures, par les méthodes de Koch ; on a vu plus haut que nous partageons en partie sa manière de voir.

Les tubes de gélatine et d'agar-agar sont soumis à de courtes ébullitions de quelques minutes répétées trois ou quatre jours de suite.

Cette opération peut se faire directement sur la flamme d'un bec de Bunsen ; dans ce cas, il est bon de fluidifier d'abord au bain-marie. Il est préférable



FIG. 103. — Panier de fil de fer pour la stérilisation des tubes de gélatine et d'agar-agar dans le poêle à vapeur.

d'accomplir les stérilisations dans le poêle à vapeur ; les tubes rangés dans les paniers en fil de fer (fig. 103) sont suspendus dans la vapeur d'eau bouillante plusieurs jours de suite pendant dix minutes chaque fois.

C'est ici le moment de donner à la gélatine et à l'agar-agar dans les tubes la forme qu'ils doivent définitivement avoir : en effet, l'on peut, dans ces mi-

lieux gélatinisés, faire des cultures de deux façons différentes, cultures en profondeur, cultures en surface. Dans ce dernier cas, il y a donc avantage à rendre la surface de la gelée nutritive aussi grande que possible, on y arrive de la manière suivante : on place les tubes contenant la matière encore liquide dans une position très inclinée, en ayant soin cependant que le liquide reste encore à une certaine distance de la bourre de coton obturatrice et on les laisse se solidifier dans cette situation ; on obtient ainsi une surface très large et très oblique, par rapport à l'horizon, et qui permet l'inoculation sur une grande longueur ; de plus, lorsqu'on a affaire à des espèces bactériennes liquéfiant la gélatine, la partie liquide venant s'accumuler à la partie inférieure ne gêne pas par sa présence le développement ultérieur des colonies.

Pour les tubes qui doivent être inoculés en profondeur, on les laisse se solidifier dans la position verticale.

Les pommes de terre étant enveloppées sur toute leur surface par une pellicule infranchissable aux bactéries, lorsqu'elle n'a pas de solution de continuité, n'ont pas besoin d'être stérilisées, et leur cuisson suffit amplement à cela.

Il nous reste maintenant à parler de la stérilisation du sérum ; cette opération se confondant pour ainsi dire avec la gélatinisation de ce sol nutritif, nous ne pouvons mieux faire que de les décrire ensemble.

On commence par stériliser le sérum ; pour y arriver, on met les tubes qui le contiennent dans l'un de

ces appareils que nous avons décrits plus haut (stérilisateurs de sérum, page 274), dont la température est maintenue rigoureusement à 58° centigrades; on les y laisse une heure, et cette opération est répétée pendant six jours de suite ; il reste à transformer le sérum en une gelée transparente. Pour cela, il faut éviter de le chauffer brusquement, car il se coagulerait tout d'un coup et resterait opaque. Il faut donc chauffer très lentement, de façon à atteindre une température oscillant entre 65 et 68° centigrades, limite extrême qu'on doit éviter de dépasser sous peine de voir le sérum s'opacifier et être mis hors d'usage.

Comme les inoculations dans le sérum se font en général en surface, il faut pendant la gélatinisation placer les tubes dans une position très inclinée, afin d'obtenir un sol de culture aussi vaste que possible. Cette gélatinisation du sérum nécessite des appareils



FIG. 104. — Coagulateur de sérum de Koch.

spéciaux, car il faut que les tubes soient placés dans une situation presque horizontale,

L'appareil coagulateur de Koch est formé d'une cuvette plate à double paroi (fig. 104) formant chambre à eau; elle se chauffe par-dessous. Elle est portée par quatre pieds, dont les deux antérieurs sont à glissière, de façon à pouvoir placer le fond de l'instrument dans une position plus ou moins inclinée.

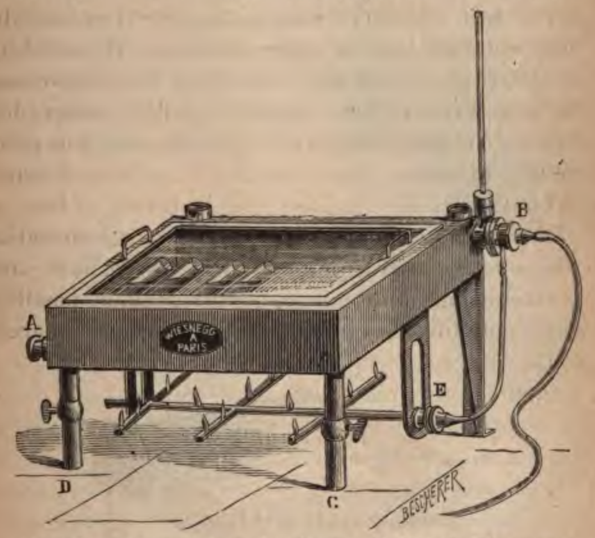


FIG. 105. — Coagulateur de sérum. (Modèle de Wiesnegg.)

Les tubes à sérum sont placés sur ce fond et on obtient ainsi une surface elliptique très allongée du sérum.

Wiesnegg a construit un appareil analogue (fig. 105) mais plus perfectionné : il est muni d'un régulateur à membrane d'Arsonval et peut servir à la fois de stérilisateur et de coagulateur pour le sérum ; c'est là un

avantage marqué qui permet de ne pas multiplier outre mesure l'appareil instrumental déjà compliqué. Si on avait un grand nombre de tubes de sérum à gélatiniser, on pourrait employer une étuve à incubation dont la température serait bien réglée par un appareil à membrane ou un thermo-régulateur.

De toute façon, on doit surveiller attentivement l'opération qui dure en moyenne d'une demi-heure à une heure, et on enlève les tubes au fur et à mesure qu'ils se solidifient. On a réussi quand le sérum coagulé est solide, transparent et d'une belle couleur jaune ambrée.

4° *Ensemencement des cultures.* — *Cultures en tubes d'essai.* — L'ensemencement des tubes d'essai doit toujours se faire avec une substance contenant une seule espèce bactérienne, car c'est une méthode peu pratique pour l'isolement des espèces; elle se fait, soit avec une culture pure antérieure, soit avec une colonie recueillie avec toutes les précautions nécessaires sur une *plate culture* ou culture sur plaque.

Si on veut inoculer un tube de gélatine en profondeur, on le prend dans la main gauche et on le tient verticalement, le fond tourné en haut (fig. 106). On saisit la bourre d'ouate avec la main droite entre le quatrième et le cinquième doigt, et en tournant le tube sur lui-même on la fait sortir. Une aiguille de platine stérilisée est chargée de la matière à inoculer et introduite verticalement dans le tube. On l'enfonce rapidement dans la gélatine à une profondeur de trois à quatre centimètres et on la retire exactement

dans la même direction, puis on rebouche immédiatement le tube. On ne doit jamais faire, dans un



FIG. 106. — Ensemencement d'un tube de gélatine avec l'aiguille de platine chargée de microbes.

tube, plus d'une seule piqûre. Les tubes sont alors étiquetés et mis au râtelier pour être placés ensuite à une température convenable.

Lorsqu'on veut faire des inoculations en surface, on procède d'une manière un peu différente. Au lieu d'enfoncer l'aiguille chargée de la matière à ensemencer, dans l'épaisseur de la substance gélatinisée,

on se contente de la frotter plusieurs fois à la surface du sol de culture ; pour faire cette opération, on ne peut tenir le tube verticalement renversé, mais on le maintient horizontal (fig. 107) et on évite ainsi également l'arrivée des germes atmosphériques. De toute façon, quelque soit le procédé adopté, on doit toujours ensemencer plusieurs tubes avec la même substance (de trois à six), de façon à comparer les résultats ultérieurs.



FIG. 107. — Manière de procéder pour ensemencer un tube en surface ou pour procéder aux dilutions dans la confection des cultures sur plaques.

Il arrive quelquefois que, dans des tubes préparés depuis quelque temps, la gélatine se dessèche à la surface et forme une croûte, qui en se fendillant au

moment de l'inoculation masquerait souvent les caractères de la culture. Pour parer à cet inconvénient, il convient de la liquéfier de nouveau et de l'inoculer lorsqu'elle a refait prise.

Pommes de terre. — Nous avons dit plus haut (page 296) comment on procédait pour diluer sur les pommes de terre les germes que l'on y semait, lorsqu'on a obtenu une culture pure et qu'on veut la reproduire. On inocule le tubercule, soit en le piquant légèrement avec l'aiguille, soit en traçant des lignes parallèles sur la surface de section. Dans ces deux cas on obtient des colonies de formes différentes.

Les flacons d'Erlenmeyer chargés de purée de pommes de terre s'inoculent comme les tubes à gélatine, mais on peut faire plusieurs piqûres dans le même flacon.

Cultures sur plaques ou plates-cultures. — La méthode des plates-cultures est certainement une des plus originales qui ait été inventée pour faire l'opération dite du *triage des germes ;* mais, selon nous, son emploi doit être strictement limité à cet usage, et l'expérience journalière est là pour montrer dans quelle erreur on tomberait, si l'on voulait au moyen de plates-cultures obtenir des cultures pures de bactéries. Les plaques de gélatine offrent une si large surface de contamination, qu'il est à peu près impossible de voir se développer sur les plaques, les seuls germes qu'on y a mis ; presque toujours les germes de l'air (bactéries ou moisissures) y ont été déposés et on les voit se développer presque en même temps.

Mais, malgré ses nombreux inconvénients qui

excluent de la méthode une réelle rigueur scientifique, elle est commode et présente d'immenses avantages pour l'étude et la séparation des espèces bactériennes. Elle présente en outre l'avantage considérable de permettre l'examen histologique des colonies en voie de développement. D'après les auteurs qui ont préconisé cette méthode, ce serait là un avantage inappréciable, chaque espèce bactérienne offrant une disposition coloniale qui lui est particulière. Nous pensons qu'il faut un peu rabattre de cet enthousiasme, et s'il est vrai que certaines bactéries se reconnaissent facilement soit à la forme, soit à la couleur des colonies auxquelles elles donnent naissance, ce sont là des faits particuliers qu'il est prématuré de généraliser et les tentatives de classification qui ont été faites sur ces caractères ont jusqu'à présent complètement échoué, comme il arrive presque toujours d'ailleurs aux classifications purement morphologiques. Quoi qu'il en soit, tout bactériologiste devra être familiarisé avec l'emploi de cette méthode qui, si elle est sujette à des objections d'ordre scientifique, n'en reste pas moins dans la pratique d'une utilité incontestable.

La confection d'une plate-culture comporte trois opérations successives : dilution des germes dans la gélatine, application de la gélatine sur la plaque, mise en culture.

Il faut d'abord ensemencer un tube d'essai à gélatine avec la substance à examiner (liquide quelconque, eau, sol, etc.), de façon à répartir dans la gélatine les germes le plus parfaitement possible. Voici la

façon de procéder : dans un vase contenant de l'eau chaude entre 30° et 35°, on place plusieurs tubes à gélatine stériles qui se liquéfient ainsi doucement. On prend un de ces tubes lorsque la substance est bien liquide ; si le tampon obturateur était par trop souillé par les poussières, on l'incinérerait légèrement pour éviter les contaminations accidentelles. Puis on place le tube entre le pouce et l'index de la main gauche ainsi qu'il est indiqué (fig. 107), l'orifice du tube tourné vers la paume de la main et celle-ci regardant en haut ; on tient le tube très incliné, presque horizontal, sans que la gélatine puisse toucher le bouchon d'ouate ; on retire celui-ci en le saisissant entre le quatrième et le cinquième doigt de la main droite qui tient en même temps l'aiguille à inoculation comme une plume à écrire. On peut se servir d'une simple aiguille en platine stérilisée, mais il est préférable de se servir d'un fil recourbé en anse à son extrémité. On introduit l'aiguille dans la gélatine liquéfiée et on la débarrasse de la matière d'inoculation en l'agitant dans le liquide ou en la frottant à plusieurs reprises le long des parois, puis on rebouche rapidement le tube.

Pour répartir les germes aussi uniformément que possible dans la gélatine, on fait subir au tube des mouvements d'oscillations et de va-et-vient combinés avec des mouvements de roulement entre le pouce et l'index, ces mouvements doivent se faire lentement, il faut se garder d'agiter fortement et de former des bulles d'air dont on ne pourrait se débarrasser à cause de la viscosité du liquide. Il ne reste

plus qu'à étaler le contenu du tube sur une plaque stérilisée suivant la méthode que nous décrirons plus loin. Il arrive fréquemment que la matière à inoculer se trouve agglomérée assez solidement pour que sa diffusion dans la gélatine devienne très laborieuse; il est alors préférable de la placer dans une petite quantité d'eau stérilisée qu'on peut alors agiter violemment, pour amener la désagrégation de la substance, et c'est cette eau ainsi chargée de bactéries qu'on incorpore à la gélatine.

Le procédé que nous venons d'indiquer est celui qu'on devra suivre lorsque la substance à inoculer ne contiendra qu'une quantité relativement faible de germes bactériens. Il n'en sera plus de même si la matière d'inoculation est très riche en microbes; en effet, dans ce dernier cas, sur la plaque les colonies seraient trop nombreuses, trop rapprochées et alors, ou bien elles se confondraient les unes avec les autres, ou bien elles se gêneraient réciproquement dans leur développement et de toute façon le triage des germes deviendrait très laborieux; il faut donc opérer d'une manière un peu différente, par la *méthode des dilutions* imaginée par Koch. On fait fondre trois tubes à gélatine qu'on numérote 0, 1, 2. Dans le 0 on pratique l'inoculation comme il a été indiqué plus haut; ce tube porte le nom d'*original*. Puis on ensemence de la même façon le tube n° 1 avec trois gouttelettes de l'original au moyen d'une aiguille à boucle; ces trois inoculations successives peuvent être faites avec la même aiguille et sans qu'il soit nécessaire de la stériliser à nouveau après chaque

transfert. On rebouche le tube n° 1 et l'on a ainsi la *première dilution*.

On répète la même opération sur un troisième tube avec les mêmes précautions et avec le même nombre de gouttes, on a ainsi la *seconde dilution*. Chacune de ces dilutions et la solution originale sont coulées sur des plaques de verre qui seront également numérotées 0, 1, 2. On aura ainsi trois plates-cultures qui contiendront un nombre décroissant de germes. La figure 107 indique comment on doit tenir les deux tubes et leurs bourres pendant l'inoculation.

Reste maintenant à indiquer comment on étale la gélatine ensemencée à la surface des plaques de culture. Cette opération, pour réussir convenablement, doit être faite assez vite et la gélatine doit être solidifiée aussi rapidement que possible. Si l'on opère en hiver ou dans une pièce fraîche, on peut se passer d'appareils spéciaux; si la température est au contraire élevée, il faut se servir d'une planchette à niveau disposée de façon à permettre le refroidissement de la plaque de verre. Disons de suite qu'en général on peut se passer de réfrigérateur, et qu'avec un peu d'habitude on arrive à amener la gélatine à un degré d'épaississement tel qu'elle se solidifie presque tout de suite. Pour que la gélatine soit à point, il faut qu'elle commence à devenir filante.

Sur une table on a d'abord installé un papier filtre recouvert d'une cloche en verre, on ouvre la boîte où sont les plaques stérilisées, on en sort une avec une pince également stérilisée, on la place sur le papier filtre. On prend alors le tube ensemencé et lors-

que la gélatine est à la consistance voulue, on enlève rapidement le tampon d'ouate qu'on jette, et soulevant la cloche, ou ce qui est mieux la faisant soulever par un aide, on verse la gélatine au milieu de la plaque de verre. Au moyen d'une baguette de verre qu'on stérilise en la passant dans le bec Bunsen, on étale la gélatine en ayant soin qu'elle n'arrive jamais à plus d'un centimètre et demi du bord. On replace alors la cloche et on attend la prise de la gélatine. Pendant ce temps on prépare la chambre humide. Pour y ranger les plaques, on se sert de petits bancs en verre ou en métal (fig. 96) on les trouve dans le commerce, mais on peut les fabriquer économiquement soi-même avec des lames de zinc ou de laiton qu'on recourbe à leurs extrémités; on peut ainsi les empiler les unes par-dessus les autres et mettre un certain nombre de plaques ensemencées dans la même chambre humide dont le fond sera garni, ainsi que nous l'avons dit plus haut, d'une feuille de papier filtre imbibée d'une solution de sublimé. Lorsqu'on a eu recours à la méthode des dilutions on opère de la même façon, mais on a soin, en rangeant les plaques dans la chambre humide de mettre en bas l'*original* qui contient le plus de germes, parce que si les bactéries liquéfiaient la gélatine, celle-ci serait exposée à couler et irait souiller les plaques placées en dessous, cet inconvénient sera évité en mettant en haut les plaques les moins chargées de germes.

Lorsque, par suite de la température ambiante, la solidification de la gélatine ne pourrait se faire que

lentement, il est nécessaire d'employer un appareil réfrigérateur (fig. 108).

Il se compose d'un triangle monté sur des vis calantes, et qui supporte un grand cristallisoir contenant un mélange réfrigérant ou simplement de l'eau glacée. Le cristallisoir est recouvert d'une lame

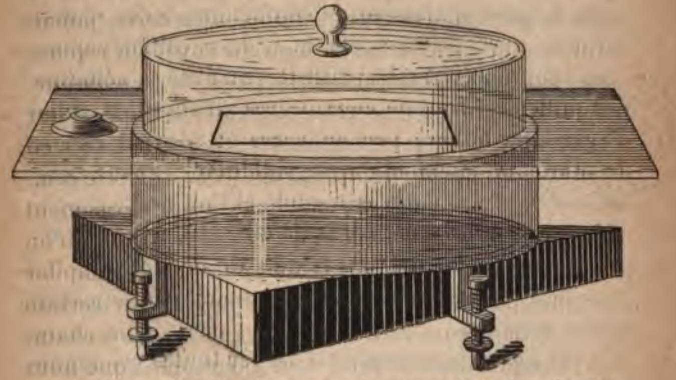


FIG. 108. — Réfrigérateur pour la préparation des plaques de gélatine destinées au triage des germes.

de glace ou de métal qui supporte un niveau à bulle d'air destiné à donner à la surface du support une direction parfaitement horizontale ; c'est sur cette surface horizontale qu'est placée la plaque, et elle est recouverte d'une cloche. La gélatine y est versée d'après le procédé indiqué plus haut ; il est évident qu'on peut modifier à volonté l'appareil réfrigérateur et qu'on peut remplacer le mélange de glace et de sel par un appareil qui pulvériserait de l'éther, par exemple.

La méthode des cultures sur plaques peut aussi servir à la confection de cultures pures ; dans ce cas,

l'inoculation se fait directement sur la plaque de gélatine avec l'aiguille de platine chargée des germes. Mais cette méthode est défectueuse, et, en somme, les plates-cultures seront toujours réservées pour le triage des germes et la séparation des espèces.

On a tenté également de confectionner des plates-cultures avec l'agar-agar, mais leur confection est plus laborieuse et plus difficile qu'avec la gélatine. Les difficultés sont de deux ordres : d'abord, la gelée d'agar-agar adhère peu au verre et souvent elle se décolle complètement en se solidifiant. Ensuite, de 38° à 40°, la gelée devient solide et l'on ne peut procéder aux dilutions au delà de 40°, car, à une température plus haute, on risquerait de détruire les bactéries qu'on veut cultiver, pour peu qu'elles soient sensibles.

Il me paraît convenable d'opérer toutes ces manipulations en maintenant les tubes plongés dans un petit bain-marie exactement maintenu à 40° ; une fois l'inoculation faite, on opère rapidement pour verser l'agar-agar sur la plaque, afin qu'il ne se solidifie pas dans le tube et qu'il s'étale bien en surface. Comme l'agar-agar n'a pas grande tendance à adhérer à la surface plane du verre, il vaut mieux le verser dans de petits cristallisoirs très plats, ou plus simplement dans de larges verres de montre. L'emploi des plaques d'agar-agar est surtout indiqué pour l'isolement des espèces chromogènes ou de celles qui liquéfient la gélatine, car l'agar-agar ne subit pas ordinairement de liquéfaction.

Nous venons d'exposer, avec un peu de détails, les divers tours de mains utilisés dans l'ensemencement des diverses espèces de cultures ; il est bien entendu qu'avant de procéder à l'ensemencement d'un sol de culture quelconque, on doit au préalable s'assurer de la stérilité parfaite de la substance nutritive, en la plaçant pendant plusieurs jours dans les conditions de température et d'humidité où se fera la culture. Toute matière qui subirait un changement quelconque dans sa consistance ou sa transparence devra être rejetée comme défectueuse, ce n'est qu'à cette condition que les résultats obtenus auront toute la rigueur scientifique désirable.

5° *Mise en culture.* — Aussitôt que l'ensemencement est fait, il importe de placer immédiatement la culture dans les conditions où on veut l'étudier. Les cultures sur pommes de terre placées dans leur chambre humide peuvent rester à la température ambiante ou être portées à l'étuve d'incubation. L'agar-agar se met toujours à l'étuve, mais à une température inférieure à 40°. Il est surtout destiné à cultiver les bactéries qui ne se développent qu'à une température supérieure à 25°. Les cultures sur gélatine nutritive ne peuvent se faire au delà de 22°, car, au-dessus de cette température, la gélatine se liquéfie et on perd tout le bénéfice du milieu solide.

Les plaques destinées au triage des germes, les tubes de culture doivent être placés sous de grandes cloches, rangés de façon à ce qu'on puisse y jeter un coup d'œil sans être obligé de les exposer à l'air.

Tubes et plaques sont soigneusement munis d'une étiquette numérotée, permettant de se reporter à un registre où l'on consigne au fur et à mesure les détails de la culture. Les cultures sur sérum gélatinisé sont sujettes aux mêmes précautions, puis mises à l'étuve d'incubation : elles sont généralement réservées aux bactéries parasitaires et plus spécialement à celles de la tuberculose.

6° *Etude des cultures.* — Tandis que, dans les méthodes suivies par l'école de Pasteur, l'étude des cultures ne comportait guère que l'étude microscopique, dans les cultures sur milieux solides, cette étude doit être forcément précédée d'une étude générale à l'œil nu. Les bactéries qui se développent dans un bouillon de culture ne tardent pas à s'y diffuser, et, hors un petit nombre de cas, se contentent de le troubler sans lui donner un aspect caractéristique permettant d'emblée la reconnaissance de l'espèce de culture. Au contraire, les bactéries se développant dans les milieux gélatinisés y produiraient des lésions typiques, pour ainsi dire, dont les caractères seraient suffisants pour déterminer, sans aller plus loin, un grand nombre d'espèces bactériennes. Aux caractères histologiques spécifiques de l'espèce vient s'en ajouter un autre, la notion de la forme prise par l'agglomération des organismes ou *colonie*.

Pour procéder avec méthode, on commencera par noter exactement toutes les phases de la culture, les caractères grossiers de couleur, de forme. Pour les

tubes, on notera les phénomènes qui se passent à la surface et dans la profondeur du sol nutritif; et pour assurer encore plus de rigueur à son examen, on pourra prendre plusieurs croquis de toutes les phases de la culture; on verra si la gélatine se liquéfie ou non, etc., etc...

Nous ne pouvons ici décrire, même rapidement, les diverses formes que prennent les colonies d'inoculation dans les tubes, l'étude seule familiarisera avec ces formes, mais on en prendra quelque idée par l'examen des planches.

L'étude des plates cultures se fera d'abord également à l'œil nu ou à la loupe ; mais ici on a l'avantage de pouvoir procéder à l'examen avec le microscope. L'examen à l'œil nu se fait en mettant la plaque sur un morceau de drap noir. Pour l'étude microscopique, on enlève l'appareil d'éclairage d'Abbé et on se sert de petits diaphragmes. On peut ainsi suivre le développement d'une colonie dans toutes ses phases; ici encore il est indispensable de dessiner les diverses phases d'accroissement de la colonie avec la chambre claire. L'aspect de ces colonies est également extrêmement varié, et les formes les plus diverses peuvent être observées.

Nous n'avons que fort peu de choses à dire de l'examen histologique : nous répéterons ici de ne pas oublier de commencer toujours par l'étude de l'organisme vivant et de ne procéder qu'ensuite à des préparations définitives colorées. Pour faire des préparations histologiques extemporanées ou définitives, on peut, soit examiner dans la gélatine liquéfiée de

la culture, soit après avoir dilué les bactéries dans un peu d'eau stérilisée. Nous renvoyons le lecteur, pour les détails, au chapître où il est traité de l'étude histologique des bactéries en général.

D. Culture des bactéries anaérobies.

Nous avons vu ailleurs comment les recherches de Pasteur étaient arrivées à établir une différence fondamentale entre la vie à l'air et la vie sans air ; il y a donc des êtres *aérobies* et des êtres *anaérobies ;* nous avons vu que, entre ces deux termes extrêmes, existait une catégorie d'organismes qui pouvaient vivre indifféremment d'une vie aérobie ou anaérobie, mais que dans ce cas la réaction sur le milieu était notablement différente. Nous retrouverons cette distinction en pathologie et nous essaierons de démontrer que, là aussi, il y a des bactéries indifférentes, c'est-à-dire pouvant devenir pathogènes dans certaines conditions de milieu, et qui ne le seraient pas autrement.

La culture des microbes anaérobies ne nous occupera pas aussi longuement que celle des microbes aérobies que nous avons exposée plus haut avec tout les développements compatibles avec l'importance de cet ouvrage. Ces cultures peuvent comme les autres se faire par les deux grandes méthodes de Pasteur et de Koch, c'est-à-dire dans des bouillons ou dans des substances gélatinisées.

Deux moyens principaux sont à la disposition de l'expérimentateur pour éloigner le contact de l'air, le vide et les gaz inertes ; mais il est bon de savoir

qu'il est presque impossible de faire disparaître jusqu'à la dernière parcelle d'oxygène libre.

Si l'on se sert d'un bouillon de culture, le procédé du vide peut être appliqué de la façon suivante : on place le bouillon inoculé dans un ballon dont le col est muni d'un robinet pouvant effectuer une fermeture hermétique conservant exactement le vide : puis avec une trompe ou mieux une pompe à mercure on retire l'air aussi complètement que possible, puis on replace le ballon dans un bain-marie à 40°. Le bouillon entre en ébullition et se débarrasse ainsi totalement de l'air dissous. On ferme alors le robinet et on met en culture. Si on a affaire à des bactéries produisant des gaz par leur développement, il arrivera un moment où au lieu de vide on aura un gaz sous pression qui pourrait être un obstacle au développement des organismes ; il sera facile par le moyen du robinet de refaire le vide avec la pompe à mercure. Si au contraire les bactéries en culture ne produisent pas cet excès de gaz il sera plus simple de se servir de ballons étirés d'avance (fig. 50) et qu'on scellera au chalumeau une fois le vide effectué.

La méthode des milieux solides se prête mieux aux cultures anaérobies ; la façon la plus simple de procéder consiste à se servir de tubes d'essais assez longs contenant la gélatine nutritive sur une hauteur d'environ 10 centimètres.

On inocule la gélatine fluide par le procédé des dilutions, et de cette façon les germes qui sont dans les parties inférieures sont tout à fait à l'abri du contact de l'air. On peut aussi fort simplement recou-

vrir la gélatine ensemencée d'une couche de 1 centimètre d'huile stérilisée. Enfin, on peut facilement remplacer l'air des tubes par de l'hydrogène préparé à un grand état de pureté.

Pour les plaques, le problème est plus ardu et il est rare qu'il soit complètement résolu ; on peut placer les plaques sous une cloche soigneusement lutée à sa partie inférieure et dans laquelle on remplace l'air par de l'hydrogène pur.

De toute façon, le milieu qui se prête le mieux à la culture des bactéries anaérobies est l'agar-agar additionné de 1 à 2 p. 100 de glucose.

La culture des anaérobies est entourée d'un certain nombre de difficultés qui l'empêchent d'entrer dans la pratique usuelle et de devenir un procédé courant ; c'est pourquoi nous nous sommes contenté de l'indiquer sans entrer dans beaucoup de détails, chacun pouvant appliquer suivant les besoins ces principes généraux s'il est déjà familiarisé avec les études bactériologiques.

E. Cultures pures. — Triage des germes. — Isolement des espèces bactériennes.

Dans le long exposé que nous venons de faire des méthodes usitées pour la culture des bactéries, nous avons supposé chaque espèce bactérienne isolée et débarrassée de ses congénères. Il nous reste maintenant à étudier comment on arrive à isoler les unes des autres les diverses bactéries et comment par les opérations ayant pour but le triage des germes, on arrive à la confection des *cultures pures*.

Il faut d'abord être pénétré de cette loi générale, qu'il est extrêmement rare que les diverses matières destinées à l'ensemencement ne contiennent qu'une seule espèce de bactéries, et en toute occasion on ne pourra être assuré de la pureté d'une culture, que si on a procédé à une séparation méthodique des germes.

Comme la pureté d'une culture était corrélative de ce triage, c'est à Pasteur qu'on doit les premiers procédés pratiques pour l'effectuer. Deux méthodes sont surtout usitées pour les cultures dans les bouillons ; les cultures par fractionnement et les cultures par dilution.

Dans les *cultures par fractionnement* on procède de la façon suivante : après avoir ensemencé un milieu nutritif avec la substance à étudier et après que le développement des organismes qui y sont contenus paraît s'être effectué, on prend une goutte de la culture avec une pipette capillaire et on la porte dans une nouvelle portion de bouillon stérilisé, et on répète plusieurs fois cette opération; par ce procédé il arrivera un moment où une seule espèce bactérienne sera introduite dans le milieu nutritif. On admet généralement que l'espèce que l'on arrive ainsi à isoler n'est pas celle qui présentait au début le plus grand nombre d'individus dans la substance inoculée, mais bien celle dont le développement est le plus rapide ; moins une bactérie mettra de temps à se diviser, plus elle sera facile à isoler par ce procédé.

La méthode des *cultures par dilution* se propose d'arriver à ensemencer un milieu nutritif avec un

seul germe, c'est une méthode qui, sans être parfaite, est beaucoup plus précise et sujette à moins d'aléa que la méthode par fractionnement. C'est celle qui fut d'abord utilisée par Miquel dans ses recherches statistiques sur les germes de l'air.

Voici comment on procède : une goutte de la culture impure est placée dans 30 centimètres cubes d'eau stérilisée placée elle-même dans un récipient stérilisé ; on agite bien pour mélanger, puis avec une pipette stérilisée on prélève un demi à 1 centimètre cube qu'on place dans une même quantité d'eau stérilisée (30 centimètres cubes), puis on fait avec ce second liquide une nouvelle dilution dans 30 centimètres cubes du même liquide. On a ainsi une liqueur dans laquelle les germes sont très espacés. Cette dernière dilution est enfin ensemencée par gouttes dans des bouillons de culture. En procédant ainsi on obtient des cultures ne contenant habituellement qu'une seule espèce bactérienne, mais on voit de suite le défaut de ces méthodes ; on n'est jamais sûr d'avoir fait un nombre suffisant de dilutions afin d'arriver au germe unique par goutte de liquide, et il devient nécessaire d'ensemencer un nombre considérable de vases à culture. Cela ne peut guère se faire que si on jouit d'une grande installation et ces procédés restent l'apanage des laboratoires officiels bien outillés. Malgré toutes leurs imperfections, ces procédés ont été pendant longtemps, les seuls connus, et, encore aujourd'hui, ils doivent être conservés pour un certain nombre de cas auxquels ils sont seuls applicables.

Autant le triage des germes est une opération

longue et délicate par les méthodes dont nous venons de parler, autant il est simple et facile par la méthode des plates-cultures.

Nous avons dit plus haut comment on s'y prenait pour confectionner ces plates cultures, nous n'y reviendrons pas ; nous allons voir ici comment ce procédé permet l'isolement des germes bactériens.

C'est généralement environ vingt-quatre heures après la confection des plaques, qu'on commence à voir apparaître dans la gélatine les petits points qui vont constituer les colonies ; chaçune de ces colonies constituera d'emblée une culture pure et si la dilution a été suffisante, ces diverses colonies seront assez espacées les unes des autres pour pouvoir être facilement enlevées séparément de dessus la plaque. On comprend comment une colonie ainsi isolée peut devenir le point de départ d'une culture pure en masse, car il suffit pour cela de la transporter dans un bouillon stérilisé ou dans un tube muni de substance gélatinisée.

Si l'on avait des raisons pour émettre des doutes sur la pureté des colonies, il suffirait de recourir avec l'une d'elles à une nouvelle série de plates-cultures, de sorte qu'on aurait la certitude absolue que chacune des colonies n'a eu pour origine qu'un seul germe.

Il n'est pas toujours facile d'enlever sur la plaque des bactéries appartenant à une seule colonie ; cette opération doit se faire sous le microscope et elle nécessite une certaine dextérité que l'on n'acquiert qu'après un long apprentissage. La figure 109 représente

l'opérateur se livrant à ce travail. On place la plaque sur la platine du microscope, et, une fois qu'on a trouvé la colonie à inoculer, on saisit de la main droite une aiguille de platine stérilisée qu'on tient comme une plume à écrire, on choisit de préférence un fil de platine assez fin, légèrement crochu à son extrémité. On appuie l'annulaire et le petit doigt de la main droite sur la platine du microscope pour donner de l'assurance à la main et on avance la pointe de l'aiguille sous le microscope. Comme on se sert d'un faible grossissement, on a toute la place voulue pour l'opération ; la difficulté consiste surtout dans le renversement des images, qui amène, surtout au début, une certaine gaucherie dans les manœuvres ; on cherche alors, par de petits mouvements, à arracher une parcelle à la colonie étudiée, travail qui est souvent assez laborieux.

Lorsqu'on est parvenu à enlever tout ou partie de la colonie, on inocule immédiatement un tube à gélatine, après s'être assuré qu'aucune autre colonie voisine n'a été touchée pendant les investigations avec l'aiguille.

Cette méthode est sans contredit la plus parfaite que nous connaissions pour le triage des germes et c'est à elle qu'on aura souvent recours. Malheureusement son emploi est limité par ce fait que de nombreux germes ne se développent pas dans la gélatine dans les conditions de température auxquelles on est obligé d'opérer. Une fois le triage et l'isolement des germes opéré par ce procédé, la culture pure n'est plus qu'un jeu, on pourra la faire, soit dans des bouil-



FIG. 109. — Figure montrant la manière de procéder au triage des germes et à la recherche des colonies sur plaques pour l'ensemencement des cultures pures.

lons, soit dans des milieux gélatinisés suivant les nécessités de l'espèce qu'on aura à étudier et d'après les règles exposées plus haut.

CHAPITRE IV

EXPÉRIENCES SUR LES ANIMAUX

Dans les chapitres qui précèdent nous avons étudié en détail les procédés qui permettent de reconnaître et de cultiver les bactéries ; lorsqu'on fera des recherches de bactériologie botanique, si l'on veut se contenter d'étudier une espèce en elle-même, on pourra s'en tenir là. Si au contraire on travaille dans un but d'application médicale, si on veut établir le rôle pathogène d'une espèce bactérienne, il faudra parcourir une étape de plus, la reproduction expérimentale de la maladie supposée causée par l'organisme qu'on étudie.

Une difficulté se présente dès le début dans l'interprétation des faits observés, difficulté que l'expérimentateur ne devra pas perdre de vue pour ne pas céder à la tentation de généraliser trop hâtivement ses conclusions. L'expérience sur l'homme nous est interdite et force nous est, de nous rejeter sur les animaux ; or, l'on sait fort bien que la résistance aux bactéries est un facteur des plus variables, suivant les espèces animales et que tirer des conclusions de

l'animal à l'homme est toujours fort risqué. Pour que les conclusions soient inattaquables, il faut que l'espèce animale choisie soit susceptible de prendre spontanément la maladie étudiée et que cette maladie ait avec l'affection similaire de l'homme une parenté clinique et anatomique assez étroite pour qu'on puisse admettre leur identité. Hormis ce cas, et il est malheureusement rare, les conclusions à tirer des expériences sur les animaux seront toujours empreintes d'une grande incertitude ; c'est là un fait qui doit toujours être présent à l'esprit pour se garder de substituer un raisonnement plus ou moins vraisemblable à la stricte observation des faits.

Après avoir ainsi mis l'expérimentateur en garde contre les écueils de cette méthode, disons qu'elle est excellente et peut donner, entre des mains habiles, les plus remarquables résultats. Outre la reproduction expérimentale des maladies, elle est un moyen d'effectuer des cultures pures ; elle peut aussi servir à atténuer les virus en passant d'une espèce à l'autre et *vice versâ*.

Le choix des animaux d'expérience devra être réglé sur les principes généraux que nous venons d'énoncer, c'est-à-dire que dans l'étude d'une maladie on devra, autant que possible, choisir une espèce susceptible de la contracter spontanément ; cela n'est pas toujours possible. Ainsi, par exemple, pour le charbon, on ne pourra pas toujours avoir des moutons et des bovidés à sa disposition; on aura alors recours aux animaux habituels de laboratoire (chiens, chats, cobayes, lapins, souris, rats, poulets, pigeons, grenouilles).

Nous allons décrire successivement d'une façon sommaire les divers procédés expérimentaux employés couramment pour introduire des bactéries dans l'organisme des animaux.

1° Inoculations. — *Injections cutanées.* — La voie cutanée est l'une des plus utilisées pour l'expérimentation sur les animaux, et il est important d'être familiarisé avec les divers procédés mis en usage.

L'inoculation peut se faire dans l'épaisseur même de la peau (inoculation endermique) ou sous la peau (inoculation sous-cutanée).

L'inoculation cutanée proprement dite, endermique, se pratique en faisant une petite plaie avec un scalpel stérilisé ou des scarifications et en déposant sur la plaie la substance d'inoculation. On peut aussi simplement pratiquer une piqûre avec une aiguille stérilisée, ou un scalpel flambé chargé de la matière à inoculer.

On choisira toujours pour le point d'inoculation un endroit peu éloigné de la tête de l'animal, afin qu'il ne puisse pas lécher la plaie ; chez les souris et les lapins on choisit de préférence la base de l'oreille, il faut au préalable désinfecter la peau comme il sera dit plus loin.

L'inoculation sous-cutanée est la méthode la plus sûre et par suite la plus employée, c'est elle qui donne les meilleurs résultats.

Il n'est pas inutile de donner quelques détails sur la manière dont on s'y prend pour saisir les animaux; les lapins sont facilement saisis par les oreilles et

par les membres; étendus sur une table, l'inoculation est possible en tous les points du corps.

Les souris sont prises par la queue avec la main gauche et introduites, la tête la première, dans un petit bocal de verre; la tête et le cou de la souris sont dans le bocal, et l'animal ne peut se retourner parce que ses pattes glissent sur le verre. On peut alors le plus facilement du monde leur faire une injection à la base de la queue. Si l'on veut inoculer une souris à la nuque où à l'oreille, on prend de la main gauche la queue de l'animal, et, avec une pince à branches recourbées tenue entre les doigts de la même main, on saisit la nuque. L'animal étant ainsi immobilisé, on pratique l'inoculation avec la main droite.

Pour les rats, c'est un peu plus difficile, il faut les prendre par la peau du dos avec une longue pince; on les enlève, et on leur place un mors dans la bouche, celui de Ranvier, par exemple, puis on les fixe ensuite sur une planchette d'expériences avec des ficelles passées aux pattes et après le mors. Pour les injecter à la base de la queue on pourra procéder comme pour les souris, mais en ayant soin de placer un couvercle lourd sur l'orifice du bocal, de façon que l'animal ne puisse pas se retourner.

Pour les cobayes, il suffit de leur mettre la tête dans un linge et de les placer sur le dos la tête en bas; ils sont bientôt hypnotisés et ils ne bougent presque plus pendant les opérations.

Il est ordinairement inutile d'endormir les animaux pour les inoculations simples, on n'a recours au chloroforme que pour les opérations sérieuses.

Quel que soit l'animal choisi, les précautions préliminaires à prendre avant de pratiquer l'injection sont toujours les mêmes. On commence par couper avec des ciseaux courbes les poils de la région, au besoin on les rase, on lave ensuite la place au savon, au sublimé, à l'alcool et à l'éther, puis on termine en cautérisant légèrement, avec une baguette de verre chauffée, le point où se fera l'incision de la peau.

Pour faire l'inoculation, on fait sur le point cautérisé une petite incision avec un bistouri stérilisé, puis avec un stylet flambé on fait un trou dans le tissu conjonctif dans lequel on insinue la substance à inoculer (culture, fragment de. tissus) en la poussant profondément.

Pour injecter les liquides on a recours aux seringues à inoculations; il y a de nombreux modèles de ces instruments :

La seringue de *Pravaz* peu convenable, car elle est difficile à stériliser.

La seringue de *Pasteur*, dont le piston formé de deux petites rondelles de cuir peut être changé à chaque opération.

La seringue *Chamberland* destinée surtout aux vaccinations animales et utile seulement quand on a un grand nombre d'inoculations à pratiquer.

La seringue de *Koch*, entièrement en verre et en métal; le piston est formé d'une mèche de coton ou d'amiante qu'on peut renouveler chaque fois qu'on se sert de l'appareil. Le tube de verre est vissé sur la partie métallique et le joint rendu hermétique par l'interposition d'une rondelle de liège. Les se-

ringues sont stérilisées à l'air sec entre 140 et 160° pendant deux heures; avant d'aspirer le liquide, on mouille le piston avec de l'eau stérilisée.

Le même auteur a fait construire une seringue sans piston (fig. 110), où la propulsion du liquide s'obtient par l'intermédiaire d'un petit ballon de

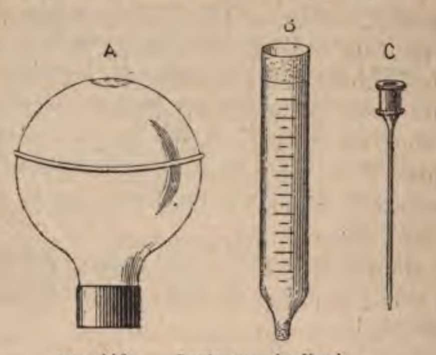


FIG. 110. — Seringue de Koch.
A. — Ballon de caoutchouc; B. — Corps de la seringue gradué; C. — Aiguille.

caoutchouc qui peut s'adapter au corps de la seringue dont il est séparé par un robinet.

Tout médecin est familiarisé avec l'usage de la seringue à injections hypodermiques dont le maniement est des plus simples. Pendant que l'animal est maintenu immobile, on fait un pli à la peau avec le pouce et l'index de la main gauche, puis on enfonce l'aiguille canule de la seringue à la base de ce pli; lorsque par les mouvements imprimés à l'instrument on reconnaît qu'on est dans le tissu cellulaire sous-cutané, on pousse doucement l'injection. Pour les

souris, on ne peut faire de pli à la peau et on pique directement en traversant obliquement les téguments.

Injections intra-veineuses. — On peut introduire les substances à injecter directement dans le système veineux, à condition d'opérer sur des liquides, car autrement on risquerait de voir se former des embolies pouvant amener la mort rapide de l'animal. L'injection intra-veineuse peut se faire au pli de l'aine chez les cobayes, mais chez les lapins elle se fait à l'oreille avec la plus grande facilité.



FIG. 111. — Petite ampoule scellée, remplie d'eau stérilisée, destinée à diluer les cultures sur gélatine pour faciliter les inoculations.

Un aide maintient le lapin, l'opérateur cherche par transparence la grosse veine de l'oreille; on choisit un endroit près de la base, on coupe les poils, on antiseptise la peau. Avec une pince fine on fait un très petit pli à la peau en ayant soin de ne pas prendre les parois de la veine, et l'on enlève un tout petit fragment de peau avec des ciseaux courbes; la veine fait fortement saillie, il est alors facile d'y faire pénétrer la canule de la seringue en la dirigeant exactement dans le sens de la veine, ce qu'on reconnaît à ce qu'elle s'y meut librement.

Dans les injections intra-veineuses, il faut éviter avec soin l'introduction de l'air qui peut provoquer la mort subite de l'animal en expérience; et il est bon,

si l'on veut introduire une quantité notable de liquide, de se servir d'eau salée à 0,75 p. 100 au lieu d'eau distillée.

Injections dans les cavités naturelles. — Chez les grenouilles dont on se sert peu, à cause de leur basse température, peu favorable au développement des bactéries, on peut faire des injections dans le sac lymphatique. Pour cela, on soulève la peau du dos avec une pince fine, et on pique à la base du pli avec la canule de la seringue de Pravaz; souvent il suffit de piquer la peau et de faire pénétrer dans le sac lymphatique le bout d'une aiguille chargée de la substance d'inoculation.

L'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil du lapin constitue une méthode d'infection très sûre qui a été employée surtout pour les inoculations de la tuberculose. Baumgarten a fondé sur l'emploi de ce procédé une méthode de culture pure du bacille de la tuberculose; en procédant à des inoculations en série, au bout de cinq à six animaux inoculés, on arrive à n'avoir plus que des bacilles tuberculeux. Le grand avantage de cette méthode réside dans la possibilité, vu la transparence de l'organe, d'assister à l'évolution des lésions produites par l'inoculation. On procède à l'opération comme pour une iridectomie. Après avoir insensibilisé l'œil du lapin avec la cocaïne, un aide maintient la tête du lapin; l'œil est immobilisé avec une pince à dents de souris et attiré en bas; on fait une incision de la cornée dans son tiers supérieur près du bord de l'iris avec les

précautions opératoires et antiseptiques habituelles. Une fois l'humeur aqueuse écoulée, on introduit la substance à inoculer soit avec une pince à iridectomie si c'est un solide, soit avec l'aiguille à boucle s c'est un liquide.

L'inoculation dans l'œil du lapin peut aussi se faire avec la seringue de Pravaz pour les substances d'inoculation liquides; ce procédé est moins bon que le précédent.

Les injections dans les cavités séreuses (plèvre, péritoine, articulations) se font avec les mêmes précautions et au moyen des mêmes instruments.

L'injection dans le péritoine est la plus facile et la plus usitée : le seul danger est la perforation des viscères intestinaux avec l'aiguille. On peut l'éviter facilement par le procédé suivant : un aide tient l'animal par la tête et le train de derrière; en rapprochant ses mains, il courbe l'animal et place les muscles abdominaux dans le relâchement complet ; l'opérateur fait alors avec la main gauche un pli comprenant toute l'épaisseur de la paroi abdominale, on enfonce la canule à la base du pli, on lâche alors le pli, et la canule se trouve libre dans le péritoine.

Les injections dans la plèvre sont beaucoup plus difficiles sans léser le poumon et chez les petits rongeurs (souris), l'opération est presque impossible.

Pour les inoculations intra-cérébrales, Pasteur enlève, au moyen du trépan, une rondelle d'os sur le crâne pour mettre les méninges à découvert, et à l'aide de la seringue de Pravaz, il injecte la matière virulente à la surface du cerveau. Gibier a indiqué un

moyen d'inoculation cérébrale beaucoup plus simple. Au moyen d'un petit foret, il pratique sur la ligne médiane du crâne un petit orifice pouvant admettre une aiguille mousse s'ajustant avec la seringue. Il faut avoir soin (ce point est essentiel) de faire la perforation sur la ligne médiane pour passer dans l'espace interhémisphérique et au niveau des circonvolutions frontales pour éviter de blesser le sinus longitudinal supérieur. De plus, l'aiguille doit s'arrêter aussitôt après avoir traversé les os. Ce mode opératoire permet d'opérer les chiens sans les attacher et sans chloroforme, une simple piqûre de morphine à la base de l'oreille suffit avec la muselière. Pour les rats et les souris, il suffit d'inoculer avec l'aiguille ordinaire qui traverse facilement les os du crâne de ces animaux.

Dans toutes les injections à la seringue, il faut tenir un grand compte du volume de l'animal; c'est ainsi que, chez les souris par exemple, l'injection d'une seringue entière est une quantité colossale qui correspondrait chez l'homme à plusieurs litres de liquide : ce sont là, on le voit, des causes d'erreur dont il faut se garer sous peine de voir les résultats se fausser singulièrement, par suite des accidents provoqués par l'injection elle-meme.

2° **Ingestion par le tube digestif.** — On a généralement recours à ce procédé pour se rapprocher autant que possible des conditions naturelles d'infection. Mais on doit tenir compte de l'action destructive du suc gastrique, à laquelle beaucoup de microbes

adultes ne résistent pas, aussi doit-on faire ingérer aux animaux des bactéries adultes, et des bactéries en sporulation.

Pour les petits animaux (lapins, cobayes) on se sert de la sonde œsophagienne. Chez les lapins, l'introduction de la sonde ne souffre aucune difficulté; chez les cobayes, il faut user d'un artifice : on met entre les incisives un petit morceau de bois percé d'un trou à travers duquel on passe la sonde de sorte que l'animal ne peut la couper avec ses dents.

Pasteur, dans ses expériences sur l'infection spontanée dans la maladie charbonneuse dite *sang de rate*, arrosait le foin et les aliments destinés aux animaux avec des cultures pures du *bacillus anthracis*.

Koch plaçait les produits de culture dans un fragment de pomme de terre creusé d'une petite cavité; il recouvrait avec un autre morceau de pomme de terre et le tout était introduit jusque dans l'arrière-bouche à la base de la langue.

Tels sont les procédés généraux employés pour l'infection par les voies digestives; il y a de nombreuses variantes, suivant les cas particuliers, par exemple, la méthode de Koch dans le choléra. Ces méthodes spéciales seront décrites avec les maladies auxquelles on les applique principalement.

3° **Inhalations**. — Ce procédé est employé surtout pour les inoculations tuberculeuses et pneumoniques. Le plus simple est d'enfermer les animaux dans des boîtes dont on infecte l'atmosphère en y pulvérisant des liquides tenant en suspension les germes qu'on

veut inoculer. Il est prudent de prendre de rigoureuses précautions pour soi-même, en faisant ces inhalations, et nous pourrions citer des exemples d'infection chez l'homme, survenue au cours d'expériences et dont l'origine n'était pas douteuse. La méthode la plus parfaite pour ces inhalations consiste à trachéotomiser au préalable les animaux en expérience, et à faire les pulvérisations au niveau de la canule.

4° **Autopsie des animaux expérimentés.** — Les autopsies des animaux inoculés doivent être faites très complètement et avec le plus grand soin, afin d'y constater toujours l'organisme, cause de l'infection, et de pouvoir le cultiver de nouveau à l'état de pureté et le réinoculer, le rôle pathogène d'une bactérie ne pouvant en effet être établi que par cette succession d'opérations.

Le cadavre de l'animal est fixé sur une gouttière ; il est soigneusement lavé, désinfecté et inondé avec une solution de sublimé ; les instruments auront été stérilisés par la chaleur.

En règle générale, on commencera par examiner le point d'inoculation, on coupera les poils avec des ciseaux stérilisés et on notera avec soin les hémorrhagies, les suppurations locales ainsi que les œdèmes ou toute autre particularité. On ouvre ensuite l'abdomen et le thorax avec des instruments stérilisés ; pour chaque organe on se servira d'un nouveau couteau ou scalpel n'ayant pas encore servi ; chaque organe est d'abord lavé soigneusement au sublimé, puis incisé avec des ciseaux ou un scalpel stérilisé.

Au fur et à mesure, on recueille les sucs et les produits de grattage avec des pipettes capillaires flambées ou avec des aiguilles, et on inocule immédiatement des tubes de gélatine, d'agar-agar, des pommes de terre, etc.

Si l'on veut obtenir du sang retiré directement des vaisseaux, on fait à une veine une petite incision avec des ciseaux stérilisés et on introduit par l'ouverture une pipette flambée, une aiguille à inoculation ou à boucle, l'aiguille d'une seringue de Pravaz.

Une fois la dissection terminée, on conserve les organes dans l'alcool absolu pour l'examen ultérieur : on peut aussi faire des coupes fraîches par la congélation ; nous avons ailleurs insisté sur ces procédés.

Une fois le cadavre inutile, il faut le faire disparaître pour éviter les accidents, le meilleur moyen consiste à le brûler, puis, immédiatement après, on désinfecte ses mains et les instruments.

Pour les microbes très virulents, comme le charbon, par exemple, on ne prend jamais trop de précautions et on peut se servir, pour éviter les piqûres, de gants de caoutchouc qui protègent bien la surface de la peau et empêchent des inoculations malheureuses par les écorchures qu'on peut avoir.

LIVRE QUATRIÈME

MALADIES CAUSÉES PAR LES BACTÉRIES

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION A L'ÉTUDE DES BACTÉRIES PATHOGÈNES

Il n'existe pas dans l'ensemble de la doctrine médicale une question qui ait intéressé les pathologistes au même degré que celle de l'origine et de la cause des maladies infectieuses; c'est là, sans contredit, un des chapitres les plus importants de la pathologie générale et il n'y a pas lieu de s'étonner de voir de siècle en siècle les hommes les plus éminents chercher à scruter le secret de la nature et mettre en lumière tantôt les faits les plus saisissants, tantôt les plus ingénieuses hypothèses. Les discussions les plus intéressantes ont été soulevées, souvent avec une incroyable passion, sur ce sujet brûlant, et il ne

sera pas inutile, avant d'étudier les maladies générales envisagées au point de vue moderne, de passer une revue rapide des étapes successives parcourues par la science, toujours à la recherche d'un idéal, recherche féconde, qui, si elle ne nous a pas jusqu'ici fait entrevoir la vérité dégagée de tout nuage, a du moins enrichi la pathologie d'une immense moisson de faits.

On peut dire qu'il n'est pas une seule école médicale qui n'ait cherché à donner à l'origine des maladies infectieuses, une explication conforme aux doctrines qu'elle professait; mais l'idée la plus ancienne et la plus enracinée était celle de la spontanéité des maladies infectieuses. On faisait jouer à l'encombrement, aux privations, à la misère, au surmenage et au manque d'hygiène, un rôle prépondérant; l'organisme fatigué par toutes ces causes de débilitation allait en s'affaiblissant, et devenait malade. Ces idées ont traversé les siècles et le temps n'est pas éloigné où un professeur de pathologie générale de la faculté de Paris, Chauffard, soutenait encore la spontanéité des maladies infectieuses. Le talent et l'ardeur avec lesquels cette manière de voir fut défendue trouvent leur explication dans la préoccupation légitime des médecins et cliniciens éminents qui la soutenaient, de ne pas laisser le malade, réalité pratique, s'effacer devant une entité, la maladie; nous allons plus loin retrouver cette idée du terrain, qui, même avec les conceptions scientifiques modernes de l'infection, doit encore occuper une place prépondérante dans la pathologie générale.

A côté de la doctrine de la spontanéité, s'élevait celle de la spécificité des maladies infectieuses ; cette notion plus évidente que la première était couramment acceptée ; malgré son évidence, elle faillit être renversée par des découvertes scientifiques qui, en raison de leur importance, prirent un essor considérable et menacèrent l'existence de ce qu'il y avait de réellement conforme à la vérité dans les vieilles doctrines scientifiques.

Les progrès de l'anatomie descriptive, la création par Bichat de l'anatomie générale, les idées de Broussais, les admirables recherches de Laënnec et de Cruveilhier inspirèrent l'école organicienne ; la lésion anatomique prit la place la plus importante, laissant dans l'ombre et l'oubli la cause réelle de la maladie. Mais l'école anatomo-pathologique ne tarda pas à être au bout de son essor, car la lésion ne pouvait tout expliquer, surtout dans ces cas si nombreux où la mort arrive avec des lésions organiques presque insignifiantes.

Les doctrines microbiennes ont eu ce bienfaisant effet de ruiner pour jamais l'idée de la spontanéité des maladies infectieuses et de rétablir, à la place qui lui convenait, celle de la spécificité. Malgré quelques précurseurs, qui furent plus prophètes qu'observateurs, par exemple Robert Boyle cité plus haut, c'est à Pasteur que revient incontestablement l'honneur d'avoir donné une base scientifique à la doctrine de la spécificité, par l'assimilation des maladies infectieuses aux fermentations.

Il s'en faut que la théorie microbienne des ma-

ladies soit adoptée par tous les médecins ; nombre d'esprits éminents la repoussent encore ; et entre les partisans convaincus et les ennemis déclarés, il y a place pour la foule des sceptiques. Sans doute, il serait dangereux et illusoire de considérer la doctrine bactériologique comme une vérité absolue, qui ne pourra être détruite par les recherches de l'avenir ; les enthousiastes qui lui attribuent une telle portée sont sans doute à côté de la vérité, et il faut bien espérer qu'il y aura encore à glaner pour les travailleurs futurs dans le vaste champ de la pathologie générale; mais si on vient à comparer cette doctrine avec les autres théories qui ont été imaginées pour expliquer l'origine des maladies infectieuses, on ne peut pas ne pas convenir que l'hypothèse microbienne, si tant est que ce ne soit qu'une hypothèse, est celle qui rend compte du plus grand nombre de faits.

Les *blastèmes*, les *miasmes* sont des vues de l'esprit, des expressions vagues qui ne répondent à rien de tangible et de scientifique, qui ont pendant des siècles dévoyé et fait errer la saine doctrine médicale; au contraire l'idée que les virus ne sont autres que les bactéries, leurs germes ou les substances sécrétées par ces organismes, a jeté un jour éclatant sur la pathologie, en même temps qu'elle a amené des résultats pratiques dont l'importance est immense.

Pasteur, par une série d'expériences très habilement conduites, est arrivé à démontrer que chez l'individu vivant, à l'état normal, le sang ne contient pas de germes de bactéries. Nous avons insisté dans un précédent chapitre sur le procédé qu'il avait em-

ployé pour extraire le sang des vaisseaux sans lui faire subir le contact de l'air impur; ce sang, conservé dans des matras en présence de l'air pur reste indéfiniment sans altération; il se putréfie au contraire très rapidement dès qu'il a été mis au contact de l'air ambiant : c'est de ce point de départ que sont nées les conceptions médicales nouvelles sur les maladies infectieuses.

L'organisme est fermé de toutes parts hermétiquement; et normalement, il ne porte pas en lui des germes de maladie; cette barrière naturelle vient-elle, par suite d'une cause accidentelle, à être franchie, la lutte commence entre l'individu et le germe; l'issue du combat dépendra du degré de résistance réciproque de chacun des deux êtres en présence.

Les objections n'ont pas manqué à cette manière nouvelle d'envisager l'infection. Richard Lewis admet que le sang et tous nos organes sont à l'état normal peuplés de germes; l'individu tombe-t-il malade, ces germes trouvant un milieu favorable à leur existence se développent et prennent la forme de bacilles, spirilles, coccus, etc... Les bactéries ne sont donc pas la cause de la maladie, mais un épiphénomène, un accident. Les expériences de Chauveau et de Pasteur sur la filtration des virus et du sang charbonneux ont réduit au néant cette théorie qui n'était qu'une grossière régénération de la doctrine des miasmes.

Il existe une autre objection beaucoup plus sérieuse, et qui a été défendue avec une incontestable autorité par les pathologistes les plus éminents, tels que Naegeli, le professeur Peter et Robin; d'après eux, il

n'y aurait pas de bactérie spécifique pour chaque maladie, et un microbe quelconque deviendrait pathogène en passant dans le corps d'un individu malade. Les bactéries ne constituent pas la maladie, elles ne sont que les agents de transport du virus.

Il est impossible de méconnaître la valeur de cette objection, dont les auteurs font preuve d'un scepticisme scientifique très favorable aux progrès de la science ; sans doute nombre de bactéries pathogènes ne diffèrent en rien, morphologiquement, d'autres bactéries inoffensives, sans doute on n'a presque jamais trouvé dans l'air de germes nocifs ou meurtriers ; mais comme les propriétés virulentes se transmettent par la culture *in vitro* à un grand nombre de générations successives, il faudrait déjà admettre que la bactérie, rendue nuisible par le contact avec un organisme malade, a en même temps acquis la puissance de transmettre à sa descendance par l'hérédité ses propriétés pathogènes, ce qui est déjà une grande concession. D'autre part, jusqu'à présent l'objection ne peut tenir que pour les bactéries morphologiquement identiques, car il n'y a pas encore d'exemple d'une maladie microbienne connue déterminée par des bactéries morphologiquement différentes. Les fameuses expériences de Büchner, qui prétendait avoir vu le *bacillus subtilis* du foin devenir virulent et se transformer en bacille charbonneux, ne reposent que sur une erreur grossière d'observation, et ne tiennent pas devant l'analyse.

Nous ne reviendrons pas ici sur la possibilité de la

naissance des germes aux dépens des éléments de nos tissus, cette question ayant été traitée avec tous les développements qu'elle comporte au chapitre des générations spontanées.

Nous avons plus haut appelé l'attention sur ce fait que la présence d'une bactérie ne suffit pas à déterminer une maladie ; il faut encore qu'elle tombe dans un milieu approprié à son développement ; que deviendrait le grain de blé sans la terre où on le sème ? Nous touchons ici au point faible des doctrines microbiennes et, en juge impartial, nous nous faisons un devoir de le mettre en lumière. Que devient toute cette belle théorie du microbe pathogène, s'il faut pour qu'il puisse produire la maladie que l'individu soit déjà malade ? C'est ici le triomphe de ceux qui veulent que les bactéries ne soient qu'un accessoire, sorte de comparses dont la présence est nécessaire sur la scène, mais qui ne prennent aucune part à l'action qui se déroule.

Il faut savoir ici se garder de toute exagération ; les conditions extérieures qui interviennent pour augmenter la réceptivité de l'individu et favoriser l'évolution du microbe ne constituent pas la maladie, elles ne font que créer une *opportunité morbide*, c'est ainsi que la misère, l'encombrement, la mauvaise hygiène, le surmenage, créent un terrain favorable au développement de la tuberculose ; l'acclimatement dans les villes, des individus venus de la campagne, crée un milieu propice à l'invasion du germe typhique ; il serait inutile de multiplier ces exemples, et si l'on y joint l'influence des milieux, on

a le *trépied* sur lequel repose la conception moderne des maladies infectieuses : un germe animé, un terrain favorable à son développement et un milieu extérieur favorisant par divers procédés (chaleur, froid, humidité) l'éclosion de la maladie.

Ces considérations théoriques sur la doctrine des germes vivants dans les maladies infectieuses, ne seraient qu'une étude aride et stérile, si l'on ne plaçait en regard, pour les justifier en quelque sorte, les résultats obtenus par leur adoption.

On peut sans être taxé d'exagération affirmer que les avantages recueillis de l'application des idées microbiennes ont été immenses, aussi bien dans le domaine théorique que dans la pratique. Outre la clarté que cette doctrine a jetée sur l'étiologie des maladies infectieuses, outre les notions exactes qu'elle nous a données sur l'infection, sur la contagion, elle a eu les résultats thérapeutiques les plus brillants. Dans la chirurgie, dans l'art des accouchements, elle a produit une véritable révolution qui s'est traduite par une diminution inespérée de la mortalité des accouchées et des opérés. L'emploi de la méthode antiseptique a banni des salles d'hôpital la septicémie puerpérale et tous les accidents des plaies autrefois si communs, tels que pourriture d'hôpital, gangrène, infection purulente, etc., qu'on ne rencontre plus qu'à l'état d'exception ; si bien que pour la génération médicale qui grandit à l'heure actuelle, toutes ces terribles complications, survenant chez les opérés, ne seront connues que par la lecture des livres, et qu'il sera sans doute donné à un bien petit

nombre de les voir encore assaillir les blessés et décourager les efforts des chirurgiens.

Les hommes qui, avec Pasteur, ont soutenu les idées microbiennes, malgré les objections doctrinales dont elles sont susceptibles, et malgré la violente opposition d'une partie du corps médical, ont droit sans contredit à la reconnaissance des peuples. Il n'est peut-être pas de plus touchant hommage rendu à ces bienfaiteurs de l'humanité, que la lettre suivante, adressée à Pasteur par un homme qui a été l'un des premiers à comprendre et appliquer la méthode antiseptique, le chirurgien Lister.

Edimbourg, 10 février 1874.

« MON CHER MONSIEUR,

« Voulez-vous me permettre de vous offrir une brochure que je vous envoie par le même courrier, et qui rend compte de quelques recherches sur un sujet que vous avez entouré de tant de lumière : *la théorie des germes et la fermentation*. J'aime à croire que vous pourrez lire avec quelque intérêt ce que j'ai écrit sur un organisme que vous avez *le premier* étudié dans votre *Mémoire sur la fermentation appelée lactique*.

« J'ignore si les annales de la chirurgie britannique ont jamais passé sous vos yeux. Dans le cas où vous les auriez lues, vous avez dû y trouver de temps en temps des nouvelles du système antiseptique que, depuis ces neuf dernières années, je tâche d'amener à la perfection.

« Permettez-moi de saisir cette occasion de vous adresser mes plus cordiaux remercîments pour m'avoir par vos brillantes recherches, démontré la vérité de la théorie des germes de putréfaction, et m'avoir ainsi donné le seul principe qui pût mener à bonne fin le système antiseptique.

« Si jamais vous veniez à Edimbourg, ce serait, je crois, une vraie récompense pour vous, que de voir à notre hôpital dans quelle large mesure le genre humain a profité de vos travaux. Ai-je besoin d'ajouter quelle grande satisfaction j'éprouverais à vous montrer ici ce dont la chirurgie vous est redevable.

« Joseph LISTER. »

La découverte de l'atténuation des virus a joint aux résultats humanitaires des résultats économiques importants; et si la méthode des inoculations préventives n'a pas encore été fructueusement appliquée chez l'homme, elle a pleinement réussi chez plusieurs espèces animales. Les vaccinations contre les maladies charbonneuses, le rouget du porc, le choléra des poules, ont rendu un immense service à l'industrie de l'élevage, qui a vu en grande partie se supprimer le tribut que les troupeaux payaient à ces maladies meurtrières.

Il ne nous reste plus, pour terminer cette vue d'ensemble sur la pathologie bactérienne, qu'à synthétiser en quelques lignes le mode d'action des bactéries sur l'organisme et les lésions générales qu'elles produisent.

Par quel mécanisme, les bactéries introduites dans un organisme en état de réceptivité morbide, déterminent-elles la maladie ? Agissent-elles comme des parasites ? Empoisonnent-elles par leurs déchets organiques ?

Voyons d'abord succinctement quels sont les caractères du *parasitisme*. On donne le nom de *parasites*, à des êtres vivants qui habitent à la surface ou dans l'intérieur d'autres organismes, et qui se nourrissent de leur substance (de Bary) ; si un parasite arrive à soustraire à son hôte, pour sa propre consommation, des substances indispensables à la vie de celui-ci, il occasionne des troubles physiologiques qui constituent la *maladie*. En fait de parasitisme il y a une distinction importante à établir ; il y a des parasites *obligatoires ;* ce sont ceux dont la vie est impossible en dehors de l'organisme qui lui sert de substratum. D'autre part, il existe des parasites *facultatifs*, qui peuvent vivre en dehors de l'être vivant qui leur donne ordinairement asile, et qui peuvent même pulluler dans des milieux purement artificiels.

Trouvons-nous dans les bactéries pathogènes un organisme dont l'existence relève du parasitisme ? Evidemment non ! il n'y a pas parmi les bactéries pathogènes une seule espèce qui soit *rigoureusement parasitaire ;* car la plus parasite des bactéries, celle du charbon, n'est encore qu'un parasite facultatif, puisqu'elle n'accomplit pas dans l'organisme attaqué tous les stades de son évolution, et qu'elle peut prospérer dans des milieux artificiels, tels que bouillons, gélatine, pommes de terre, etc.

La théorie des *ptomaïnes* a été saisie avec empressement par les adversaires du pouvoir pathogène des bactéries; mais, pas plus que la doctrine purement parasitaire, elle ne peut rendre compte de tous les faits observés; en effet, le bacille du charbon qui peut être pris comme type des bactéries pathogènes, ne sécrète pas de ptomaïne; en filtrant du sang charbonneux, on peut injecter une grande quantité de liquide filtré, sans produire d'accidents, tandis que l'inoculation de la plus petite parcelle de la substance restée sur le filtre détermine un charbon mortel. Quel est donc le mécanisme intime de l'infection? Une fois les bactéries introduites dans l'économie, si elles trouvent un milieu favorable, la lutte s'engage; leurs moyens d'action sont la faiblesse et la réceptivité morbide de l'individu envahi, leur multiplication, leur parasitisme et les poisons qu'elles peuvent sécréter; l'organisme attaqué cherche à se défendre par une suractivité fonctionnelle de ses cellules dont la première conséquence, presque fatale, est un phénomène clinique commun, *la fièvre;* si les bactéries triomphent, c'est la mort; si l'individu l'emporte, c'est la guérison qui est l'issue de la lutte, dont on sort toujours plus ou moins affaibli, et par cela même exposé à tous les accidents de la convalescence.

Envisagées à un point de vue général, les lésions produites par les bactéries, peuvent se ranger dans deux grandes classes : les *lésions mécaniques* caractérisées par les infarctus ou les embolies; les *lésions irritatives*, amenant l'inflammation, la mortification des tissus, etc.

Les conditions pour qu'une bactérie soit déclarée pathogène ont été bien fixées par Koch ; elles sont les suivantes :

1° Il faut que le microbe en question ait été trouvé soit dans le sang, soit dans les tissus de l'homme ou de l'animal malade ou mort de la maladie ;

2° Le microbe cultivé en dehors du corps de l'animal doit être reproduit *in vitro* pendant plusieurs générations successives, de façon à obtenir le microbe spécifique pur de toute autre matière provenant du corps de l'animal qui l'a primitivement fourni.

3° Le microbe ainsi purifié par des cultures successives, réintroduit dans le corps d'un animal sain, mais sujet à la maladie, doit reproduire chez cet animal, la maladie avec ses symptômes et ses lésions caractéristiques.

4° Enfin, on doit constater que dans l'animal inoculé le microbe s'est multiplié et se retrouve en nombre supérieur à celui de l'inoculation.

Y a-t-il beaucoup de bactéries pour lesquelles cette démonstration complète soit faite ? Certes non ; et, en ce qui concerne l'homme, il en est deux seulement, celle du charbon et celle de la tuberculose.

Dernière question : la distinction absolue entre les bactéries pathogènes et les bactéries non pathogènes est-elle légitime ? En se plaçant à un point de vue général, cette division, qui est banale et presque universellement acceptée, est cependant fausse et pleine d'ambiguité. En effet, l'expérience est là pour montrer qu'une bactérie qui est pathogène pour une espèce animale, ne l'est pas pour une espèce voisine ;

il y a plus, son rôle pathogénique varie avec la voie d'absorption ou avec les conditions dans lesquelles on place l'animal en expériences; par exemple, le lapin prend le charbon inoculé, il ne prend pas le charbon spontané; la poule ne prend le charbon que si on la refroidit; et si, une fois infectée, on la laisse se réchauffer, le bacille n'est plus pathogène. On voit donc que l'action pathogénique d'une bactérie est loin d'être absolue, et nous retrouvons ici cette question capitale du milieu, notion, d'ailleurs, dont l'essence même nous échappe.

L'idée de la spécificité absolue d'un microbe pathogène, donne également lieu à des réserves formelles. Une bactérie n'est spécifique d'une maladie, que chez certaines espèces animales, et dans des conditions déterminées. Selon nous, c'est la nature des lésions, qui déterminera la spécificité pathogénique : une bactérie sera spécifique, lorsque, introduite dans des organismes différents, mais favorables à son développement, elle produira des *lésions identiques*, soit du sang, soit des organes.

Il y a donc lieu, selon nous, de ne pas adopter la division en bactéries pathogènes et non pathogènes: telle bactérie que nous croyons inoffensive, ne l'est peut-être pas pour certaines espèces animales, et nous pensons que toute bactérie peut devenir pathogène, par le fait seul de son introduction dans un organisme dans lequel elle peut vivre et évoluer.

Il est plus conforme au véritable esprit scientifique, de diviser au point de vue pathologique les bactéries en deux grandes classes : les *bactéries spécifiques*,

qui, suivant l'espèce animale et l'état de réceptivité de l'individu, donnent lieu à des manifestations cliniques variables, mais dont le processus physiologique et les lésions produites sont univoques. La seconde classe, bien plus nombreuse, comprend presque toutes les bactéries et est formée par les *bactéries indifférentes*. Cette expression a été très heureusement créée par le professeur Jaccoud, qui a, le premier, cherché à faire cette distinction; mais nous lui donnons, quant à nous, une portée plus générale et un sens un peu différent de celui qui lui a été attribué par le savant clinicien de l'hôpital de la Pitié, puisque, d'après les idées que nous défendons, on peut faire rentrer dans cette classe presque toutes les bactéries.

Tandis que les bactéries spécifiques, produiront des maladies semblables et des lésions identiques, les bactéries indifférentes, tantôt ne produiront rien, tantôt occasionneront les lésions et les maladies les plus variées, mais que l'on peut ranger dans une seule classe, au moins dans l'état actuel de la science bactériologique, les *septicémies*. Il est permis de penser que, dans l'avenir, le nombre des bactéries indifférentes ne fera qu'augmenter encore et que peut-être elles absorberont complètement les autres, mais il serait cependant téméraire de l'affirmer; car l'histoire de la science est là, pour montrer combien les plus subtils raisonnements et les plus grandes probabilités, résistent peu à la simple observation des faits.

identité avec le charbon de Davaine ; et les tumeurs du charbon symptomatique n'étaient pour eux que des phénomènes critiques, effort de la *natura medicatrix*, pour expulser le virus hors de l'organisme. Les travaux de Arloing, Cornevin et Thomas démontrent définitivement la différence radicale qui existe entre le charbon de Davaine et le charbon symptomatique ; en isolant le microbe spécifique de ce dernier, ils purent le cultiver et l'inoculer, et trancher définitivement le différend.

On admet donc aujourd'hui deux maladies portant le nom de charbon, essentiellement distinctes : l'une est le charbon vrai, sang de rate, charbon bactéridien causé par le *bacillus anthracis;* l'autre est le charbon symptomatique de Arloing, Cornevin et Thomas, causé par la bactérie qu'ils ont appelée *bacterium Chauvæi*, en l'honneur de Chauveau. Nous étudierons successivement ces deux maladies, en commençant par le *bacillus anthracis*, et donnant à cette étude tout le développement compatible avec l'étendue de ce manuel : en effet, bien que le charbon soit la mieux étudiée des maladies bactériennes, elle est la plus ignorée de la majorité des médecins, lacune regrettable, car ce sont les études dont il a été l'objet, qui ont opéré cette révolution immense en pathologie, qui a fait envisager, comme étant d'origine microbienne, toutes les maladies infectieuses et qui a éclairci le mécanisme de leur contagion.

CHAPITRE III

LE CHARBON, LE BACILLUS ANTHRACIS

Synonymie. — Charbon bactéridien. — Sang de rate. — Fièvre charbonneuse.

Historique. — Au mois d'août 1850, Rayer communiquait à la Société de biologie les résultats de recherches entreprises par lui en collaboration avec Davaine sur l'*inoculation* du sang de rate. Après avoir décrit les lésions trouvées à l'autopsie des animaux auxquels on avait inoculé du sang charbonneux, c'est-à-dire, tuméfaction et diffluence de la rate, état *agglutinatif* des globules sanguins, état poisseux du sang, il ajoutait : « Il y avait en outre dans le sang de petits corps filiformes ayant environ le double en longueur du globule sanguin; ces petits corps n'offraient pas de mouvements spontanés. » Rayer et Davaine ne saisirent pas la relation de cause à effet qui unit les petits bâtonnets à la maladie, mais ils sont les premiers qui reconnurent la bactéridie charbonneuse.

En 1855, un Allemand, Pollender, qui probablement n'avait pas eu connaissance des travaux de

Davaine, publiait un mémoire où il signalait également la présence des bâtonnets dans le sang des animaux charbonneux ; il indique l'état agglutinatif du sang et compare les bâtonnets à des vibrions. Sans reconnaître leur spécificité, il va plus loin que Davaine, car, d'après les réactions de ces bactéries par rapport à la potasse et aux acides forts, il les range sans hésiter dans le règne végétal.

Deux ans après, Brauëll de Dorpat, en 1857, démontre la présence de la bactéridie dans le sang d'un homme qui avait contracté le charbon en faisant des autopsies d'animaux charbonneux. Il constate de plus, que les bâtonnets ne sont pas le produit de la putréfaction, mais existent déjà dans le sang avant la mort. Cependant une erreur grave est à relever dans le travail de Brauëll : ayant examiné du sang charbonneux plusieurs jours après la mort, il y trouva des bâtonnets mobiles ; il crut à l'identité de ces derniers avec les bâtonnets immobiles, tombant dans une erreur qui fut plus tard victorieusement réfutée par Pasteur, et qui consistait à prendre le bacillus anthracis pour un autre organisme de la putréfaction, le vibrion septique. Comme, d'autre part, Brauëll avait constaté cet organisme mobile dans le sang d'animaux morts d'une maladie autre que le charbon, il en conclut que la bactéridie n'avait aucune importance pathogénique.

En 1860, Delafond, à propos d'une épidémie de charbon survenue sur les chevaux de la Compagnie des Petites Voitures de Paris, réfute une première fois l'opinion de Brauëll ; il montre que les bâtonnets

mobiles sont des bactéries de la putréfaction. Le premier, il cherche à établir la nature cryptogamique du bacille charbonneux et le premier il constate par une *culture* le développement du bacille en longs filaments, sans arriver cependant à voir la production des spores.

En 1863, Davaine reprit ses études sur la bactéridie charbonneuse. Eclairé par le travail de Pasteur sur la fermentation butyrique, il arrive, à la suite d'une série d'expériences, à se convaincre que les bâtonnets auxquels il donne le nom de *bactéridies* sont bien la cause du charbon.

Leplat et Jaillard avaient cru, par des expériences peu rigoureuses et mal conduites, mettre en doute les conclusions de Davaine ; celui-ci réfuta ses contradicteurs et le premier parvint à différencier le charbon de la septicémie : c'est Pasteur qui, plus tard, complètera cette démonstration en faisant connaître le vibrion septique qui avait été inoculé par Leplat et Jaillard au lieu de la bactéridie.

En 1876, R. Koch, par la culture dans une chambre humide arrive, à constater la production des spores dans les filaments du bacille charbonneux.

Pasteur le premier, en 1877, cultive le bacillus anthracis *in vitro* en dehors de l'organisme, et par ces cultures filtrées, il démontre d'une manière irréfutable que la bactéridie de Davaine est bien l'agent spécifique de la maladie.

Dans les années qui suivent, l'histoire du charbon tient presque entièrement dans les travaux de Pasteur : il fixe successivement l'étiologie, le mode d'ino-

culation et de contagion pour le bétail; il montre la longévité du virus charbonneux et sa conservation dans les terres cultivées. Enfin, il arrive à réaliser la plus belle découverte qui ait été faite en bactériologie, la modification de virulence de la bactérie du charbon, et la création d'un vaccin contre cette terrible maladie.

Morphologie du bacillus anthracis. — L'examen de la bactérie du charbon doit être fait d'abord dans



FIG. 112. — Bacillus anthracis dans le sang d'un cobaye, examiné à l'état frais.

le sang des animaux charbonneux; il suffit de mettre une goutte de sang frais sur une lamelle et de l'examiner ainsi à un grossissement d'environ 400 à 500

diamètres. On voit que dans ces conditions, la bactérie se présente toujours sous la forme bacillaire. Ce sont des bâtonnets droits (fig. 112) cylindriques, privés de tout mouvement spontané, transparents et réfringents. Leur longueur oscille entre 5 et 20 μ, leur épaisseur entre 1 et 1,25 μ; la longueur surtout semble très variable, mais si l'on examine attentivement certains bacilles qui paraissent deux et trois fois plus longs que la majorité des autres, on voit qu'en réalité ils sont formés de plusieurs articles séparés par une petite ligne et l'on peut assister quelquefois à la disjonction des segments ; c'est là le mode de multiplication habituel du bacille dans le sang des animaux. Lorsque la préparation est traitée par une goutte d'acide acétique dilué , on aperçoit plus nettement encore les bacilles par la disparition progressive des globules rouges et blancs.

La coloration du bacille charbonneux se fait très facilement ; on étale sur une lamelle couvre-objet un peu de sang ou de tout autre liquide charbonneux, on laisse sécher à l'air, on coagule l'albumine en passant trois fois à travers la flamme d'un bec Bunsen, et on met flotter la lamelle pendant dix minutes dans une solution aqueuse ou alcoolique de couleur basique d'aniline (fuchsine, violet de méthyle, bleu de méthylène). On lave la préparation, et on la monte dans le baume au xylol après l'avoir déshydratée par l'alcool absolu et éclaircie par l'essence de girofle.

Sur les coupes d'organes, la coloration se fait très bien par la méthode de Gram ou la méthode à double

coloration de Weigert, ainsi qu'il suit : On met les coupes cinq minutes dans une solution aqueuse à 1 p. 100 de violet de gentiane, on lave dans l'alcool, puis dans l'eau et on les place ensuite dans le picro-carmin pendant une demi-heure. On décolore dans l'alcool et on monte au baume.

Lorsque le *bacillus anthracis* est sorti de son milieu vital normal, qui est le sang et qu'il est transporté dans un milieu nutritif artificiel, son aspect morphologique se modifie considérablement; les bactéries se mettent à s'allonger sous forme de filaments très longs, non ramifiés, enchevêtrés les uns dans les autres.



FIG. 113. — Filaments du bacillus anthracis cultivés à la chambre humide dans l'humeur aqueuse du lapin.

Si on les examine sans préparation, ces filaments (fig. 113) semblent homogènes et rien ne se distingue dans leur intérieur, mais si on les colore, on constate qu'ils sont en réalité formés d'une série de pe-

tites masses de protoplasma placées bout à bout et contenues dans une gaîne hyaline et transparente, chaque cellule bactérienne étant séparée de sa voisine par une petite cloison transversale. A mesure que les substances nutritives s'épuisent, on voit encore se modifier l'aspect du filament, un nouveau phénomène apparait, la *sporulation* (fig. 114). Dans chaque segment du filament, on voit poindre une petite granulation qui va en augmentant de volume et devient bientôt un corpuscule ovoïde très réfrin-

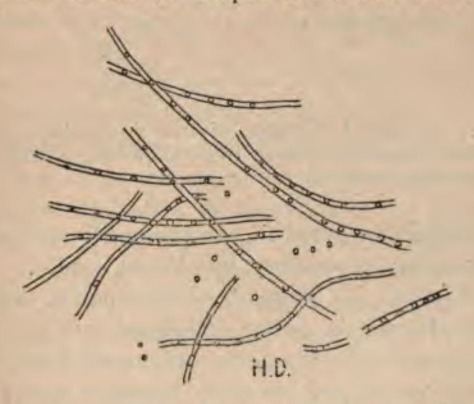


FIG. 114. — Filaments du charbon en sporulation après 12 heures de culture en chambre humide, dans du bouillon de bœuf stérilisé.

gent ; en même temps on voit disparaître peu à peu le protoplasma de la cellule et il ne reste que l'enveloppe avec une spore plus ou moins libre dans son intérieur. Un segment ne donne jamais naissance qu'à une seule spore (planche III).

Une fois la spore mûre, la végétation se suspend jusqu'à ce que cette « graine » trouve un terrain favorable à son développement : si cette condition est remplie la spore entre en germination (fig. 115). La spore commence par augmenter de volume et à l'une

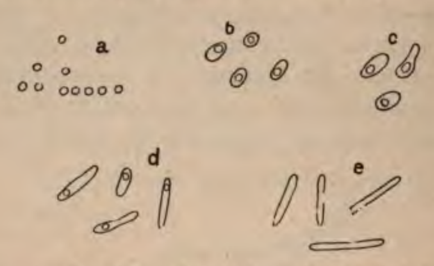


FIG. 115. — *a*, *b*, *c*, *d*. — Phases diverses de l'évolution d'une spore charbonneuse pendant sa germination jusqu'en *e*, où elle est bactérie adulte.

de ses extrémités apparaît un prolongement qui va en s'allongeant et constitue bientôt un bacille.

La coloration des filaments obtenus par la culture s'effectue d'après la même technique que pour les bacilles isolés ; si les filaments contiennent des spores, on les voit par ce procédé rester incolores tandis que le protoplasma environnant est coloré. On peut cependant réussir à colorer les spores ; si on veut colorer à la fois le protoplasma et les spores on emploie la méthode d'Ehrlich à la fuchsine et au bleu de méthylène (planche III), méthode employée couramment pour la coloration du bacille de la tuberculose. Si l'on veut colorer seulement les spores, on opère ainsi qu'il suit : une parcelle est étalée et séchée à l'air libre

sur une lamelle ; puis on passe cette lamelle, non pas trois fois, mais dix fois dans la flamme et on colore par une couleur basique d'aniline ; à la suite de ce traitement, le protoplasma est en partie détruit et ne se colore plus, les spores plus résistantes fixent encore la matière colorante. (Voy. page 202.)

Culture du bacillus anthracis. — Bien que Delafond ait tenté la culture du bacillus anthracis, c'est Koch qui le premier l'a faite méthodiquement et a pu suivre la bactéridie dans toutes les phases de son développement.

Koch se servait du procédé de la chambre humide que nous avons décrit ailleurs ; il est nécessaire d'avoir reproduit cette expérience pour avoir une idée nette de l'évolution du bacille charbonneux. Sur une lamelle, on place une goutte de sérum frais ou d'humeur aqueuse de l'œil du bœuf (fig. 113) (celle du lapin rend le même service) et on inocule cette goutte avec une petite parcelle de rate charbonneuse très fraiche, ou une petite gouttelette de sang. On retourne et on fixe la lamelle sur la chambre humide par les procédés habituels. La chambre humide est placée dans l'étuve à 35° ou sur une platine chauffante. La croissance commence en général au bout de deux heures et se fait assez vite pour qu'un observateur attentif et patient puisse la voir s'effectuer sous ses yeux ; c'est en général au bout de dix à douze heures qu'on voit apparaître les spores ; celles-ci, une fois l'oxygène et la matière nutritive épuisés, tombent au fond de la goutte sous forme d'une petite poussière. On peut aussi par

ce procédé assister à la germination des spores en ensemençant une goutte d'humeur aqueuse, non plus avec des bacilles adultes, mais avec la poussière obtenue finalement dans une culture précédente. Dans ces deux cas la vie du bacille est toujours plus active sur les bords de la goutte à cause de l'accès plus facile de l'oxygène.

Les cultures en grande quantité se font le plus commodément dans les matras Pasteur (fig. 76) remplis, environ au tiers de la capacité, de liquide nutritif. Le milieu le plus couramment utilisé pour cette culture et qui est en même temps le plus favorable est le bouillon de veau ou de viande de bœuf rendu légèrement alcalin par le carbonate de soude.

Pour l'ensemencement, on se sert du sang d'un animal qui vient de succomber; le sang est pris dans le cœur au moyen d'une aiguille de platine ou d'une pipette en verre stérilisée.

Les vases de culture sont portés à l'étuve dont la température doit être réglée à 35°. Au bout de quelques heures, on voit nager dans le liquide des flocons en tout comparables à ces fils d'araignées appelés « fils de la vierge ». Plus tard, la culture devient presque opaque et on dirait du bouillon dans lequel baigne de l'ouate. Si on examine la culture à ce moment, on voit qu'elle est formée entièrement de bacilles en filaments. Au bout de quelques jours, le bouillon a pris une teinte plus foncée, l'aspect floconneux a disparu et la culture se compose d'une partie liquide au fond de laquelle existe un fin dépôt formé par les spores.

La méthode que nous venons d'exposer est celle qui convient le mieux à la bactéridie, et c'est elle qu'on doit employer de préférence, mais le *bacillus anthracis* peut être également cultivé sur des milieux solides. Si on inocule profondément un tube à gélatine, on la voit se liquéfier à la partie supérieure : une ligne blanchâtre se manifeste au niveau du sillon de l'aiguille et de cette ligne partent des filaments ramifiés, arborescents (planche IV). D'après

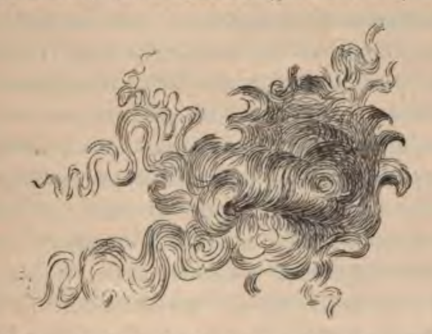


FIG. 116. — Colonie du bacillus anthracis sur plaque de gélatine à un faible grossissement.

Strauss, cette apparence n'est pas constante; sur les plaques de gélatine les colonies du bacillus anthracis ressemblent à un chevelu ondulé et frisé (fig. 116).

Les cultures sur l'agar-agar et les pommes de terre donnent de petites croûtes blanchâtres, sèches et localisées aux points d'inoculation. (Planche IV).

Physiologie de la bactéridie. — Le bacillus anthracis à l'état de bâtonnets habite normalement

dans le sang des animaux auxquels il a été inoculé spontanément ou expérimentalement, et dans le sang seulement, il garde sa forme bacillaire. Il peut vivre cependant dans d'autres milieux, mais en prenant la forme filamenteuse ; on peut le cultiver dans des milieux artificiels ou dans l'urine alcalinisée.

Nous avons vu que dès qu'on le soustrayait aux conditions normales de son existence, il avait une tendance à se convertir en spores.

Les conditions de température sont importantes à connaître pour la vie du bacille ; la température qui lui est la plus favorable est 35° centigrades ; dans ces conditions, la sporulation est terminée en vingt heures ; à 30°, la végétation demande 30 heures ; à 20° trois jours. Au-dessous de 18°, il ne se forme plus de spores et le développement des filaments est très lent et à 12°, il s'arrête totalement. A 45° centigrades également, les filaments cessent de s'accroître ; à 42 ou 43°, il y a encore culture des filaments, mais sans formation des spores.

Si on chauffe les bâtonnets à 50°, ils meurent rapidement ; il en est tout autrement par le refroidissement et une température de 110° au-dessous de zéro ne suffit pas à détruire la virulence du sang charbonneux. (V. Frisch.) Si on considère les spores au lieu de la bactérie adulte, tout change, et la résistance des *corpuscules germes* est beaucoup plus grande.

C'est ainsi que Pasteur et Joubert ont démontré que, tandis qu'une température de 50 à 55° suffisait pour tuer la bactéridie, les spores résistent à la température de l'eau bouillante, et, desséchées, elles

peuvent supporter des températures de 120° et même 130°. D'après les mêmes auteurs, tandis que l'alcool absolu fait périr les bactéridies, le même liquide n'influe en aucune façon sur les spores qui gardent leur virulence. Il en est de même pour la dessiccation.

Arloing a fait de curieuses expériences sur l'action de la lumière sur le bacille du charbon et il est arrivé à ce résultat curieux, en apparente contradiction avec ce que nous savons de la résistance des spores aux agents physiques : les spores fraîchement ensemencées dans un bouillon de culture périssent plus vite par la lumière solaire que les bacilles adultes.

D'après Strauss, on peut expliquer cette exception de la manière suivante : dans le bouillon nutritif, les spores ont commencé à germer, et la lumière n'agit plus sur les spores, mais sur le bacille *naissant* qui, en sa qualité d'être jeune, serait moins résistant que l'adulte. Ce qui semblerait corroborer cette manière de voir, c'est que dans l'eau distillée où les spores ne peuvent végéter, elles gardent vis-à-vis de la lumière une résistance égale à celle qu'elles possèdent pour les autres agents physiques.

La bactéridie charbonneuse est un être essentiellement *aérobie*, c'est-à-dire que la condition indispensable à sa vie, dans son état bacillaire, est la présence d'oxygène libre ou en combinaison instable, comme par exemple uni à l'hémoglobine dans le sang. L'absence d'oxygène arrête rapidement le développement de la bactéridie et ne tarde pas à amener sa mort. Il en est tout autrement pour les

spores qui peuvent être conservées pendant des années soustraites à l'action de l'oxygène, sans perdre une seule de leurs propriétés.

La présence de bactéries vulgaires, également aérobies, gêne considérablement le développement de la bactérie charbonneuse ; si on ensemence en même temps un bouillon avec le bacillus anthracis et une de ces bactéries, la bactéridie charbonneuse ne se développe que très peu et finit par périr.

Le même phénomène se passe dans le corps des animaux ; on peut impunément injecter des cultures de charbon à des animaux aptes à contracter la maladie, si on a associé des bactéries communes au liquide d'inoculation.

Symptômes du charbon. — La maladie charbonneuse ne frappe pas également tous les animaux, elle sévit surtout sur les bêtes à laine, puis sur les bœufs ; chez l'homme, le charbon n'est pas commun, et il est presque uniquement l'apanage de certaines professions.

Nous ne pouvons donner ici l'exposé détaillé de l'évolution clinique du charbon, et nous nous bornerons à un simple résumé, indispensable pour la compréhension du sujet, renvoyant pour plus amples détails aux traités complets de médecine vétérinaire.

Chez les bêtes à laine, dans la grande majorité des cas, la maladie est précédée de quelques prodromes : en général, ce sont les plus jolies bêtes et les mieux portantes en apparence qui sont frappées les pre-

mières. Les animaux qui vont être atteints sont doués d'une excitabilité extraordinaire : le regard est vif, la conjonctive congestionnée. On les voit s'arrêter, allonger le cou, ouvrir la bouche, dilater les narines et respirer avec peine. Si on oblige les bêtes à uriner en les empêchant de respirer, on voit s'écouler une urine roussâtre teintée de sang.

Les matières fécales deviennent molles, recouvertes d'une substance glaireuse, souvent striée de sang. A un moment donné, l'animal tombe, rejette du sang spumeux par les narines ; il est pris de convulsions des membres, il laisse échapper de l'urine sanguinolente et il expire au bout d'un temps qui varie entre une demi-heure et une heure.

Dans d'autres cas, la maladie a des allures plus brusques, souvent foudroyantes. Au milieu des apparences d'une santé parfaite, l'animal tournoie, tombe, se débat, urine quelques gouttes de sang et meurt en dix minutes.

Chez les animaux, le charbon spontané est presque toujours un charbon interne.

Nous avons dit plus haut que chez l'homme, c'était presque toujours une maladie professionnelle, qu'on observe chez les gens qui manient les débris d'animaux sous toutes leurs formes (bouchers, abatteurs, mégissiers) ; aussi le charbon externe, inoculé par la surface cutanée, est relativement beaucoup plus fréquent dans l'espèce humaine que le charbon interne.

Le charbon externe se manifeste par des phénomènes locaux au point d'inoculation, et des phéno-

mènes généraux ; pendant quelque temps, les phénomènes locaux se montrent seuls ; au bout de quelques jours, la maladie se généralise.

L'accident cutané du charbon, chez l'homme, porte le nom de *pustule maligne*. Elle débute par une petite tache rouge s'accompagnant de démangeaison et de picotement ; bientôt, l'épiderme est soulevé sous la forme d'une petite vésicule contenant une sérosité brunâtre ; la vésicule se crève et fait place à une eschare d'abord livide et plus tard tout à fait noire. Cette eschare repose sur une induration aplatie, de forme lenticulaire et autour d'elle se développe une série de vésicules groupées en couronne, contenant également une sérosité brune. A une période plus avancée, les parties avoisinantes se gonflent, s'œdématient, les ganglions de la région s'engorgent, mais, d'une manière générale, la douleur manque au siège de la pustule maligne : cette absence de douleur est néfaste, car elle empêche souvent les individus de se faire soigner, alors que la localisation du mal au début, rend la guérison presque certaine, ou tout au moins plus facile. Au bout de quelques jours, apparaissent les phénomènes généraux (fièvre, dyspnée, diarrhée, vomissements) qui se terminent le plus souvent par la mort. La guérison peut arriver spontanément, mais ce sont là des faits exceptionnels et sur lesquels on ne doit pas compter.

Quant au charbon interne, il peut s'inoculer, soit par l'intestin (mycose intestinale), soit par le poumon (charbon pulmonaire). Le charbon interne est aujourd'hui bien connu, grâce à de nombreuses

observations. La maladie représente assez bien le tableau de la forme des anciens, la *fièvre charbonneuse*. Elle débute par des phénomènes de courbature et de prostration ; ces symptômes sont bientôt suivis de phénomènes intestinaux (coliques, vomissements, diarrhée) ; on voit bientôt apparaître des phénomènes cholériformes et la mort a lieu dans l'algidité et le collapsus au bout de quatre ou cinq jours.

Mode d'inoculation et étiologie du charbon spontané. — Jusqu'aux recherches de Pasteur, la voie de pénétration de la bactéridie charbonneuse dans l'organisme était inconnue : ce sont surtout les expériences qu'il fit avec Chamberland et Roux, qui contribuèrent à éclaircir ce point de l'histoire du charbon.

Ayant pris un certain nombre de moutons, ils les nourrirent avec de la luzerne arrosée avec des cultures de la bactéridie contenant des spores ; la majorité des animaux résistait et un petit nombre succombait. La mortalité augmentait notablement, si on avait soin d'ajouter à la nourriture des objets piquants (feuilles de chardon desséchées, barbes d'épis d'orge). A l'autopsie des animaux on trouvait des lésions pareilles à celles observées chez les bêtes mortes spontanément ; les auteurs conclurent que l'inoculation se faisait dans la bouche ou l'arrière-gorge. Koch s'éleva contre cette manière de voir ; d'après lui, c'est par la voie intestinale que s'effectue la contamination dans la majorité des cas. Il citait à l'appui de sa manière de voir l'expérience suivante. Il plaçait la ma-

tière charbonneuse dans des fragments de pomme de terre creusés d'une petite cavité et il faisait déglutir cette substance aux moutons, en évitant le contact de la langue et de la bouche. En faisant ingérer des bacilles sans spores, il ne se produisait rien, les bacilles étaient détruits par le suc gastrique; en prenant des spores, les animaux mouraient du charbon, sans lésions des premières voies. En réalité les deux modes d'inoculation peuvent s'observer suivant les cas; chez le bœuf, le charbon spontané est presque toujours aussi un charbon intestinal.

Mais par quelle suite de circonstances, les animaux trouvent-ils à la surface du sol la matière charbonneuse qu'ils vont s'inoculer en pâturant? L'origine la plus connue de l'infection est la présence de cadavres d'animaux charbonneux enfouis dans le sol. Pasteur a pu démontrer l'existence des spores de la bactéridie charbonneuse dans le sol, en inoculant à des animaux, l'eau de lavage provenant de ce sol. Mais, chose curieuse, on retrouvait aussi bien la bactéridie dans une terre qui n'avait pas été remuée que dans celle qui était cultivée. Les recherches mirent en lumière deux faits : d'une part, la longue durée de la vie des spores charbonneuses, d'autre part, la non-assimilation par les végétaux de ces spores. Mais comment ces spores pouvaient-elles remonter de la profondeur à la surface de la terre recouvrant la fosse? Pasteur et Joubert ont montré que ce rôle est dévolu aux vers de terre; qui viennent, ainsi qu'on le sait communément, rendre à la surface du sol après la pluie de petits cylindres de terre qu'ils ont

puisés dans la profondeur. D'après ces auteurs, c'est bien là le mode de transport ordinaire des spores; car, en ouvrant des vers de terre vivants placés dans ces conditions, et en inoculant le contenu de leur canal intestinal, on peut reproduire le charbon. Koch démentit cette explication en prétendant que la température du sol n'était pas assez élevée pour que la sporulation du bacille puisse se faire; il oublie cependant que la température doit être singulièrement élevée par les réactions chimiques multiples qui se passent dans l'animal en putréfaction. Pour expliquer la présence des spores à la surface du sol, Koch a recours à une autre interprétation : selon lui, ce sont les inondations qui déposent les germes à la surface des prairies. Cette manière de voir n'est pas seulement hypothétique, elle est aussi enfantine, car il est notoire que, en France, le charbon est le plus commun en Beauce, plateau sec et élevé où l'inondation est un mythe et dans les pays de montagne; la même observation a d'ailleurs été faite en d'autres pays.

Tandis que, chez les espèces animales, l'inoculation du charbon se fait surtout par la voie intestinale, chez l'homme elle se fait principalement, ainsi que nous l'avons dit, par le tégument externe. La porte d'entrée est habituellement une écorchure de la peau préexistante et l'inoculation se fait presque invariablement sur les parties découvertes (main, avant-bras, face, cou). On a incriminé les piqûres de mouches, ce mode d'inoculation est tout à fait exceptionnel, et son existence est même bien loin d'être prouvée.

La bactéridie charbonneuse peut se transmettre de la mère au fœtus à travers le placenta. La pathologie humaine et animale avait depuis longtemps établi que certaines maladies virulentes pouvaient être transmises de la mère à l'enfant, mais les recherches de Davaine et de Brauëll, ainsi que celles de Chauveau, paraissaient avoir démontré que le charbon faisait exception à cette loi ; les travaux de Chamberland et Strauss, en 1882, montrèrent que chez le cobaye, la barrière placentaire est souvent franchie, que le sang fœtal peut contenir des bactéridies et être virulent dans un certain nombre de cas.

La réceptivité des diverses espèces animales est très variable ; le mouton tient le premier rang ; il y a cependant des races, les moutons algériens par exemple, qui sont réfractaires au charbon (Chauveau). Les lapins et les cobayes contractent très facilement le charbon par inoculation, mais très difficilement par la voie intestinale.

Les bœufs s'inoculent facilement par l'intestin, mais sont très résistants à l'inoculation sous-cutanée (Œmler, Pasteur, Chauveau). Les porcs, les chiens sont presque entièrement réfractaires au charbon. Les oiseaux et les animaux à sang froid possèdent une remarquable immunité.

Lésions anatomiques produites par la bactéridie charbonneuse. — Sa répartition dans les tissus. — Les lésions anatomiques observées dans le charbon sont loin d'être constantes et typiques ; mais d'une manière générale, ce sont celles qui accompagnent les

congestions suivies d'hémorrhagie. La rate est noire, grosse, diffluente (sang de rate); l'estomac et les deux intestins présentent des taches ecchymotiques noirâtres d'aspect souvent gangréneux; le contenu intestinal est parfois sanguinolent, mêmes ecchymoses et hémorrhagies dans le mésentère, dans les ganglions et le tissu cellulaire, dans les poumons et les bronches; l'urine contenue dans la vessie est sanguinolente. Le cadavre des animaux morts du charbon se décompose rapidement : du sang s'écoule par les narines, le ventre se ballonne fortement.

Si le charbon a été déterminé par inoculation expérimentale, on trouve, au lieu où a été faite la piqûre, une infiltration œdémateuse gélatiniforme du tissu cellulaire sous-cutané très caractéristique. Chez les rongeurs (lapins, cobayes) en dehors de cet œdème gélatineux il n'y a pas d'accident local au point d'inoculation comparable à la pustule maligne; chez le bœuf, l'œdème au point d'inoculation est quelquefois considérable.

La lésion la plus curieuse et peut-être la plus caractéristique est l'aspect et l'état du sang; ce dernier est noir, poisseux; il a perdu la propriété de rougir à l'air et ne se coagule plus spontanément ou tout au moins très lentement. Les globules rouges sont plus ou moins agglutinés « coulant comme une gelée un peu fluide » (Pasteur); les globules blancs sont plus nombreux que normalement; enfin, au milieu d'eux on voit les *bâtonnets* caractéristiques du charbon. A quoi est dû cet *état agglutinatif* des globules rouges? La cause en serait, d'après M. Pasteur, à la présence

d'une diastase sécrétée par le bacille; en effet, le sang charbonneux filtré sur la porcelaine et par conséquent devenu inoffensif, mis en contact avec du sang frais et sain, rend aussitôt les globules agglutinatifs.

Etudions maintenant les lésions histologiques et la répartition du bacille dans les organes qui doivent

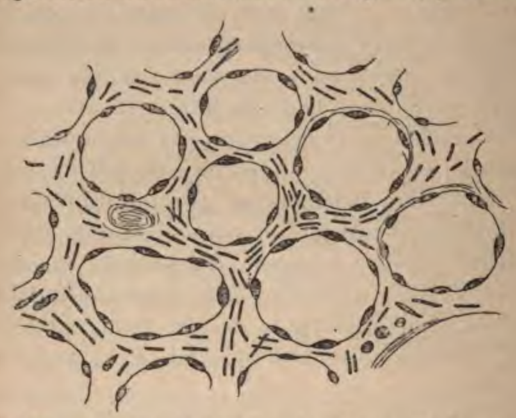


FIG. 117. — Coupe de poumon de cobaye, charbonneux.

être pour cela colorés avec les couleurs d'aniline ainsi qu'il a été dit plus haut.

Si on examine une pustule maligne, prise au début, vers le deuxième ou le troisième jour (Davaine), on constate que les bactéridies occupent le centre de la pustule et sont situées dans la couche de Malpighi, au-dessous de la couche épidermique superficielle, réparties par îlots formant chacun un feutrage compact. Lorsque l'eschare est formée, les bactéridies se

trouvent au pourtour de la tumeur ; dans les points ulcérés, des bactéries vulgaires se mêlent à la bactérie spécifique et même la remplacent complètement. Dans presque tous les organes, les bactéries sont disposées dans les capillaires sanguins, qu'ils remplissent par places en presque totalité.

Dans le rein, dans les villosités intestinales, elles se présentent sous l'aspect d'une véritable injection histologique. La rate, les ganglions lymphatiques en sont littéralement criblés, et leur accumulation prend souvent l'aspect d'une sorte de feutrage. On



FIG. 118. — Villosité intestinale de cobaye charbonneux.

voit que le bacille se cantonne dans le sang, où il trouve les conditions d'oxygénation nécessaires à son existence ; les parenchymes en sont généralement indemnes, à moins de ruptures vasculaires. Nous avons vu cependant qu'il pourrait dans certains cas traverser les parois vasculaires, d'après Strauss et

Chamberland, puisqu'il peut passer de la mère au fœtus ; cependant ce passage à travers le placenta est peut-être singulièrement favorisé par les extravasations sanguines qui sont communes dans le charbon ; ce point de vue n'a pas été étudié.

Physiologie pathologique. — Par quel mécanisme la bactérie charbonneuse produit-elle ces lésions variées et amène-t-elle la mort ? Ce point est loin encore d'être élucidé et l'on ne peut encore faire là-dessus que des hypothèses.

D'après Pasteur, la bactéridie charbonneuse et le globule rouge sont tous deux essentiellement aérobies. Une fois qu'ils sont mis en présence, il s'établit entre eux une sorte de *lutte pour l'existence* dans laquelle le succès appartient à celui des deux qui aura pour l'oxygène le plus d'affinité. M. Pasteur cite à l'appui de sa théorie l'expérience suivante : si on prend du sang de poule sur l'animal vivant, ce sang, hors du corps,se montre très propre à la culture de la bactéridie. Dans l'intervalle de vingt-quatre heures elle y pullule ; mais si la semence charbonneuse a été portée directement dans la jugulaire de la poule vivante, non seulement elle ne s'y multiplie pas, mais le microscope est promptement impuissant à en signaler la présence. Cette théorie peut se résumer en quelques mots : *Le bacille, en lutte avec le globule rouge lui prend son oxygène et détermine une véritable asphyxie.*

D'après Toussaint *la bactéridie agirait en provo-*

quant des embolies capillaires qui formeraient obstacle à la circulation.

Une troisième théorie fait jouer le rôle le plus important *aux substances toxiques (ptomaïnes ou autres) secrétées par le bacille.*

Hâtons-nous d'ajouter que jusqu'ici aucun alcaloïde (ptomaïne) n'a encore été retiré des cultures ou du sang charbonneux.

Expérimentation sur les animaux. — Lorsqu'on veut étudier le charbon au point de vue scientifique et non plus zootechnique, il serait trop coûteux d'expérimenter sur les animaux de boucherie ; on a recours aux rongeurs et surtout aux lapins et aux cobayes. L'inoculation peut se pratiquer soit par injections sous-cutanées, soit par injections dans les veines de l'oreille ; dans l'un et l'autre cas la maladie se développe aussi rapidement et avec la même marche ; chez ces animaux on ne réussit pas d'ordinaire à développer le charbon interne par l'alimentation.

Les symptômes de la maladie charbonneuse sont beaucoup moins caractérisés chez les rongeurs que chez les ruminants ; le plus ordinairement, dans la première journée qui suit l'inoculation, on ne peut guère noter qu'un peu d'empâtement au lieu de la piqûre et une élévation de la température de l'animal. Au bout de quarante-huit à cinquante heures, la respiration devient fréquente, précipitée, l'animal s'agite, il est inquiet, puis il s'assoupit et ne tarde pas à mourir après un court coma interrompu par quel-

ques convulsions ; à ce moment, sa température est au contraire fortement abaissée.

Il est bon de pratiquer l'autopsie aussitôt après la mort, et comme l'inoculation du charbon se fait très facilement, il est prudent de se servir de gants de caoutchouc. Il est nécessaire, si l'on veut procéder à de nouvelles inoculations, de prendre du sang tout de suite après la mort, sans quoi on risquerait d'inoculer non plus le charbon, mais une septicémie ; c'est pour avoir négligé cette pratique, que plusieurs auteurs avaient été conduits à affirmer de grossières erreurs sur l'étiologie de la maladie charbonneuse.

Le corps des animaux qui a servi aux expériences ne devra pas être enterré, mais brûlé complètement, après qu'on aura placé dans l'alcool pur les organes qu'on se propose d'étudier.

Thérapeutique et prophylaxie. — Nous avons vu que, à part de rares exceptions, la maladie charbonneuse chez l'homme était d'origine professionnelle ; la prophylaxie se fera donc surtout par des mesures hygiéniques. La pratique des vaccinations charbonneuses chez les animaux a fait diminuer dans de notables proportions les cas de pustule maligne dans la Beauce. Mais cela est encore insuffisant ; il faut que les vétérinaires et les autorités locales fassent tous leurs efforts pour assurer l'exécution des règlements concernant la destruction des cadavres des animaux charbonneux ; nous avons vu que l'incinération était le procédé le plus sûr et le plus radical.

En fait de prophylaxie contre la pustule maligne professionnelle (tanneurs, trieurs de laine, coupeurs de cornes), le cas est complexe; et on se butte ici à des questions économiques et commerciales, qu'il est difficile de concilier avec les nécessités de l'hygiène.

Bien qu'il y ait des cas non douteux de guérison spontanée de la pustule maligne, il serait imprudent de compter sur cette éventualité et une intervention précoce est de rigueur. Le meilleur traitement actuellement connu est celui que met en pratique le professeur Verneuil, qui unit la destruction par le feu à l'antisepsie par la teinture d'iode, déjà préconisée par Davaine.

Voici en quelques mots le manuel opératoire : On commence par détruire au fer rouge et radicalement l'eschare centrale, puis on fait autour, des pointes de feu très profondes; dans la zone périphérique on fait, avec la seringue de Pravaz, des injections interstitielles très voisines les unes des autres, de deux à quatre gouttes de solution aqueuse de teinture d'iode au centième.

Ces injections sont répétées toutes les deux ou trois heures. On y ajoute l'administration à l'intérieur de deux à quatre gouttes de teinture d'iode toutes les deux heures. On peut remplacer dans cette pratique la solution iodée par des solutions phéniquées.

En ce qui concerne le charbon interne, malgré d'intéressantes expériences, on devra proscrire l'usage de la viande charbonneuse et l'inspection de la

boucherie devra se montrer très rigoureuse sur ce point.

Immunité. — Nous avons vu que toutes les espèces animales ne prenaient pas le charbon avec la même facilité ; nous devons maintenant chercher à éclaircir les conditions de cette immunité, pour arriver à la conclusion de ce chapitre : *La prophylaxie du charbon et la vaccination charbonneuse.*

Les oiseaux, et principalement les gallinacés, résistent très facilement au charbon ; de même la grenouille. M. Pasteur, persuadé que cette immunité tenait à la température élevée de la poule (42°), eut l'idée de plonger l'animal en partie dans l'eau froide, et, dans ces conditions, il put à coup sûr déterminer le charbon, et faire mourir la poule au bout d'une trentaine d'heures ; il alla plus loin et fit voir qu'une poule inoculée dans ces conditions, ayant déjà laissé voir des symptômes manifestes de charbon, pouvait échapper à la mort si on la replaçait dans son état normal, et si on la réchauffait. L'expérience inverse fut faite pour les grenouilles, auxquelles on put faire contracter le charbon en les réchauffant et en élevant leur température (P. Gibier). Ceci montre combien l'immunité tient à peu de chose et comment une modification insignifiante dans l'état normal de l'animal peut l'annihiler.

Dans une même espèce animale, l'immunité varie encore selon l'âge et la race ; c'est ainsi que les jeunes animaux sont beaucoup plus sensibles que les adultes à l'inoculation charbonneuse. Chauveau

a montré que la race des moutons algériens était réfractaire au charbon. Enfin, une première atteinte de la maladie confère l'immunité.

Un certain nombre de théories ont été émises pour expliquer cette immunité ; aucune d'elles ne satisfait complètement l'esprit et nous ne les exposerons pas ici, les ayant déjà esquissées au chapitre de l'atténuation des virus en général.

Rappelons seulement les travaux de Metschnikoff,



FIG. 119. — Globules blancs du sang de la grenouille, absorbant des bactéries charbonneuses (d'après Metschnikoff).

qui a montré que les globules blancs chez la grenouille absorbaient et détruisaient rapidement les bactéridies charbonneuses.

Atténuation du virus. — M. Pasteur ayant pu, par l'action de l'oxygène, atténuer le microbe du choléra des poules, il tenta la même expérience sur le virus charbonneux ; la difficulté était d'empêcher la formation des spores. Voici, d'après Pasteur, Chamberland et Roux, le procédé employé :

Dans du bouillon neutre de poule, la bactéridie ne cultive plus à 45°; sa culture est au contraire facile à 42 et 43°, mais il ne se forme pas de spores. Au bout d'un mois de culture à cette température la bactéridie meurt, mais avant de mourir sa virulence a été en disparaissant progressivement, en *s'atténuant*.

Après huit jours de séjour à cette température, la culture est déjà inoffensive pour le lapin et le mouton. Avant d'arriver à l'extinction complète de sa virulence, la bactéridie charbonneuse passe par divers degrés d'atténuation susceptibles d'être chacun fixé par la culture, et reproduit indéfiniment avec son degré de virulence.

Enfin, puisque le charbon ne récidive pas, chaque virus atténué constitue pour le virus supérieur un vaccin, c'est-à-dire un virus pouvant donner une maladie bénigne et conférer par cela l'immunité contre la maladie mortelle.

Quand la bactéridie charbonneuse a perdu sa virulence, elle peut la récupérer par des cultures successives dans le corps des animaux. La bactéridie, qui ne peut tuer le cobaye adulte, tue le cobaye d'un jour : si l'on passe d'un premier cobaye d'un jour à un autre par inoculation du sang du premier au second, de celui-ci à un troisième, on renforce progressivement la virulence de la bactéridie. Bientôt on peut tuer les cobayes de trois ou quatre jours, d'une semaine, d'un mois, de plusieurs années, enfin les moutons eux-mêmes.

Vaccination charbonneuse. — L'atténuation du virus charbonneux, entraînait avec elle la création



FIG. 120. — Vaccination contre le sang de rate (bacillus anthracis).

d'un procédé de vaccination préventive contre le fléau qui cause de si grands ravages dans les troupeaux.

La première expérience publique de vaccination charbonneuse fut celle de Pouilly-le-Fort, près

Melun, qui eut un immense retentissement; depuis, malgré toutes les attaques dont elle a été l'objet, la méthode de M. Pasteur a fait son chemin, elle est entrée dans la pratique agricole courante, et les résultats en sont très brillants.

L'application de la méthode comporte deux inoculations successives, à douze ou quinze jours d'intervalle : la première, avec un virus faible très atténué ; la seconde, avec un vaccin plus actif et capable d'amener des accidents chez les animaux n'ayant pas déjà subi l'action du premier vaccin très atténué. Ces deux inoculations provoquent chez les animaux une maladie très affaiblie qui leur confère l'immunité. Il y a quelquefois des accidents mortels, mais la mortalité par la vaccination est très faible et nullement comparable à la mortalité par la maladie naturelle. En ce qui concerne la pratique de la vaccination charbonneuse, et les résultats statistiques qu'elle a donnés, nous ne pouvons les exposer ici et nous préférons renvoyer le lecteur au livre de M. Chamberland, où ces questions sont traitées avec tous les développements qu'elles comportent.

CHAPITRE IV

LE CHARBON SYMPTOMATIQUE
LE BACTERIUM CHAUVÆI

Synonymie. — Charbon bactérien. — Charbon essentiel de Chabert. — Charbon emphysémateux du bœuf.

Historique. — Nous avons vu plus haut quelle était la conception de Chabert sur les affections charbonneuses; il fallut de longues années pour que les erreurs consacrées par ces idées fussent effacées de la science. Si, jusqu'à la découverte de Davaine, un certain nombre d'observateurs avaient rapporté des observations non douteuses de charbon symptomatique, aucun d'eux n'avait pensé à faire de cette maladie une entité morbide spéciale.

Sanson, en 1868, rapporteur de la commission chargée d'étudier le *mal de montagne*, en Auvergne, avait remarqué que l'examen attentif du sang d'une tumeur charbonneuse ne révélait aucune bactéridie, les animaux inoculés avec le sang n'étaient pas malades, un mouton inoculé avec le liquide de la tumeur mourut en vingt-quatre heures; malgré cela,

Sanson, entraîné par les idées régnantes, méconnut la distinction entre le sang de rate et le charbon symptomatique.

Un vétérinaire de l'Yonne, M. Boulet-Josse, avait fait une communication à la Société médicale de l'Yonne, tendant à prouver qu'il y avait une forme de charbon « qui n'est pas virulente », c'est le charbon avec tumeur ; dans cette forme, le sang est normal et il ne ressemble en rien à du sang charbonneux. Cette communication, n'étant pas appuyée sur des preuves expérimentales suffisantes, passa inaperçue.

C'est Arloing, Cornevin et Thomas, qui, dans une série de travaux, ont péremptoirement établi la différence entre le sang de rate et le charbon symptomatique, ont complètement étudié l'histoire de la maladie et ont réussi à établir un procédé prophylactique par vaccination.

Symptômes du charbon symptomatique. — La maladie frappe surtout, mais non exclusivement, l'espèce bovine : ce sont les jeunes bovidés de six mois à quatre ans, ainsi que les agneaux, qui sont le plus atteints. Le début est habituellement brusque, mais il peut se faire de deux façons différentes, tantôt par des phénomènes locaux et l'apparition primordiale d'une tumeur, tantôt par des phénomènes généraux (fièvre, raideur générale, arrêt de la digestion et de la rumination, tremblement partiel aux fesses et aux épaules, frissons, sécheresse du souffle, tristesse, inappétence, refroidissement des

extrémités), accompagnés bientôt d'une boiterie due à l'apparition d'une tumeur sur l'un des membres ; il y a quelquefois à ce moment une rémission, mais elle est tout à fait passagère et ne doit pas tromper le praticien.

Ces tumeurs siègent le plus souvent dans les muscles des membres, mais on les voit aussi au tronc, à l'encolure et à la tête ; elles siègent aux points où le système musculaire est très développé, c'est-à-dire qu'on les voit surtout à la racine des membres (épaule, croupe), et nullement aux extrémités où il n'y a que des tendons.

La tumeur est irrégulière, mal circonscrite, avec une tendance fatale à l'extension rapide, pouvant acquérir un énorme volume. Tout d'abord elle est douloureuse, mais plus tard elle devient insensible, crépitante et sonore à la percussion. Les tissus qui la forment sont noirs, friables, faciles à écraser. Incisés, ils laissent écouler, au début de la maladie, du sang rutilant, puis, plus tard, un liquide semblable au sang veineux, et, dans les derniers moments, une sérosité spumeuse.

D'autres fois, les tumeurs étant situées profondément, le diagnostic est très difficile. Pendant que la tumeur évolue, les signes généraux s'aggravent, la fièvre s'allume, l'état adynamique se prononce de plus en plus, l'animal se couche et reste étendu sur le sol, la peau se refroidit et la mort arrive de la 36ᵉ à la 55ᵉ heure après l'apparition des premiers symptômes.

La guérison est très rare et la mort presque fatale,

et, jusqu'ici, la thérapeutique était restée impuissante.

Le charbon symptomatique sévit dans le monde entier : en Europe, il frappe surtout la partie montagneuse du centre (Suisse, Tyrol, Bavière, Alpes, Jura). En France, la maladie est commune à toutes les régions, mais les plus atteintes sont celles des hauts pâturages et des industries laitières. Le pays de Gex vient au premier rang, mais on l'observe aussi en Auvergne, où il reçoit le nom de *mal de montagne*. Le charbon symptomatique est d'ailleurs beaucoup plus fréquent que le sang de rate : par exemple, dans le canton de Berne, du 1er janvier au 31 décembre 1883, on a signalé 721 cas mortels, se distribuant ainsi :

Charbon symptomatique...	642
Sang de rate....	79
	721.

Sur 100 cas, il y en a environ 90 dus au charbon symptomatique.

Lésions anatomiques. — Après la mort, les cadavres se ballonnent rapidement et sont le siège rapide d'infiltrations gazeuses. On trouve les *tumeurs* caractéristiques dans les masses musculaires. La tumeur incisée montre une teinte noire d'autant plus foncée qu'on examine une portion plus centrale; cette coloration se modifie au contact de l'air et redevient rutilante; c'est cette coloration qui avait valu à l'affection le nom de *charbon*. Au pourtour de la tumeur elle-même existe un œdème considérable,

possédant les caractères de l'œdème inflammatoire. On rencontre des infiltrations gazeuses quelquefois considérables au sein du tissu conjonctif intermusculaire. Cette présence de gaz rend les organes crépitants sous le doigt, et leur permet de flotter sur l'eau, elle facilite à l'anatomiste la dissociation des fibres musculaires. Ces gaz sont en grande partie formés d'acide carbonique et de gaz des marais. Les faisceaux musculaires sont le siège

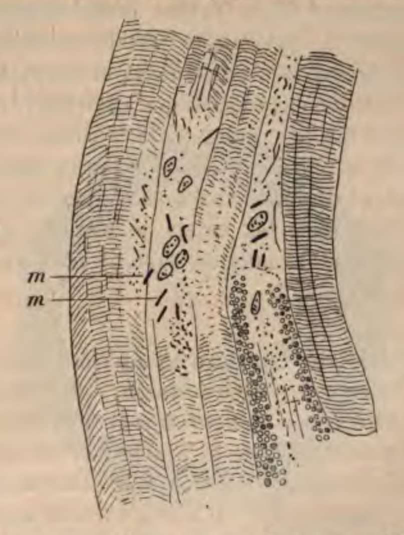


FIG. 121. — Coupe d'une tumeur intra-musculaire dans le charbon symptomatique, *m*, bactéries.

d'infarctus; les fibres ont subi la dégénérescence graisseuse ou la dégénérescence cireuse de Zenker,

et présentent de loin en loin des cassures transversales dans lesquelles on trouve les microbes caractéristiques : il peut se former des séquestres musculaires, en tous points analogues à ceux étudiés par Cornil, dans les lésions du choléra des poules. Lorsque la maladie n'a pas été foudroyante, il y a des lésions abdominales notables, les parois du pharynx et de l'œsophage sont noires et friables, rarement l'estomac est atteint, l'épiploon est infiltré de taches sanguines et de foyers hémorrhagiques ; le foie et la rate ne présentent pas de notables altérations, cependant ils contiennent en grande abondance le microbe caractéristique (fig. 121).

Le sang n'est pas sensiblement altéré ; histologiquement, il est peu modifié, les globules ont conservé leur forme, et il possède les mêmes qualités spectroscopiques que chez les sujets sains. Les ganglions lymphatiques sont malades, surtout ceux qui correspondent à la tumeur.

La bactérie du charbon symptomatique. — La tumeur, la sérosité environnante, les organes malades et même le sang renferment une bactérie qui est l'agent infectieux de la maladie. Pendant la vie, le sang en contient très peu, car cette bactérie est *anaérobie*, mais après la mort, surtout au bout de plusieurs heures, il se peuple abondamment d'organismes.

La bactérie s'offre à l'observateur sous trois formes :

1° Des *microcoques* agités de mouvements, qu'on

peut colorer par le bleu d'aniline ou la vésuvine, et mesurant 0,2 μ;

2° Des *bactéries* longues de 5 μ à 8 μ, douées d'une grande mobilité;

3° Une bactérie pourvue d'une spore à l'une de ses extrémités : cette bactérie mesurant de 5 à 10 μ de longueur, la spore occupant environ le tiers du bâtonnet; quelquefois le bâtonnet est articulé à son milieu et on voit alors une spore à chaque extrémité. Cette bactérie est animée de mouvements oscillatoires. La partie qui renferme la spore est légèrement renflée, de sorte que l'organisme prend la forme d'un battant de cloche ou d'un clou de



FIG. 122. — Bactéries du charbon symptomatique, d'après Arloing, Cornevin et Thomas (Bacterium Chauvæi).

girofle. C'est cette dernière bactérie qui est spécifique du charbon symptomatique, ainsi que l'ont démontré les cultures et les inoculations. La bactérie

résiste très bien aux alcalins et aux acides; sous l'influence de la teinture d'iode, elle prend une teinte violette, surtout lorsqu'elle n'est pas sporulée et, en tout cas, la spore ne se colore pas. L'étude de cette bactérie est très facile à l'état frais, il suffit de racler les muscles malades ou de les triturer dans quelques gouttes d'eau, pour avoir des préparations permettant d'apprécier tous les caractères spécifiques (fig. 122).

La confection de préparations persistantes est plus difficile, parce que cette bactérie fixe difficilement les couleurs d'aniline.

Procédé de Cornil. — Dissocier une parcelle d'œdème musculaire sur une plaque de verre, colorer, laisser sécher à l'air, passer dans la flamme d'une lampe à alcool, éclaircir avec l'essence de girofle, ajouter une goutte de baume de Canada et recouvrir d'une lamelle.

Procédé Arloing, Cornevin et Thomas.— Étendre une goutte de suc musculaire ou de sérosité sur une lamelle, laisser sécher, placer la lamelle dans une solution alcoolique concentrée de violet d'aniline pendant quinze minutes, laver à l'eau, sécher une seconde fois, éclaircir et monter au baume.

Lorsque les bâtonnets sont dépourvus de spores, ils restent uniformément colorés, s'ils renferment des spores, celles-ci retiennent la matière colorante; le corps du bâtonnet a des contours vaguement indiqués.

Culture du bacterium Chauvæi. — Nous avons dit que la bactérie du charbon symptomatique était un organisme anaérobie ; cette condition, comme on sait, est loin de faciliter la confection des cultures ; aussi cette bactérie se cultive-t-elle difficilement. Des essais de culture dans le sérum du sang, les bouillons de bœuf ou de veau, avaient d'abord été tentés, mais ils n'avaient pas donné de résultats satisfaisants.

Les cultures confectionnées dans ces milieux, au moyen de la sérosité puisée dans les tumeurs avec toutes les précautions voulues, perdaient très vite leur virulence et leur activité ne dépassait jamais la première génération. En remplaçant l'air du tube à culture par de l'acide carbonique, les résultats furent un peu meilleurs. Généralement ces cultures ont conservé leur virulence complète, c'est-à-dire mortelle, jusqu'à la troisième génération ; puis pendant deux autres générations, elles ont manifesté une virulence atténuée qui conférait l'immunité aux animaux soumis à leur essai ; au delà elles n'étaient plus virulentes. Ces cultures contenaient, en outre de l'organisme spécifique, d'autres espèces bactériennes analogues à celles qu'on trouve dans la tumeur charbonneuse.

Le liquide de culture auquel Arloing, Cornevin et Thomas se sont arrêtés, et qui, d'après ces auteurs, remplit le mieux les conditions nutritives nécessaires à cette bactérie, est le bouillon de poulet additionné d'une petite quantité de glycérine et de sulfate de fer. Les cultures doivent être faites dans le vide d'après la méthode de Pasteur. Ces cultures, inoculées à des

cobayes, les tuent en produisant les lésions que nous avons décrites plus haut.

On peut aussi cultiver la bactérie du charbon symptomatique dans le bouillon de bœuf acidulé avec l'acide lactique et en le plaçant, bien entendu, à l'abri de l'air.

Nous avons décrit plus haut le ferment butyrique, le *bacillus amylobacter :* tous ceux qui s'occuperont de l'étude du charbon symptomatique ne manqueront pas d'être frappés de la parfaite similitude existant entre ces deux organismes : même forme, même réaction chimique, même reproduction, même anaérobisme, tout semble en faire un seul et même microbe. L'inoculation seule peut les différencier.

Physiologie de la bactérie. — La formation des spores se fait chez le *bacterium Chauvæi* avec une très grande rapidité et au bout de quelques heures, la sporulation est terminée. Au point de vue de l'hygiène et de la pratique, il est important de savoir quel est le degré de vitalité de ces spores et du virus charbonneux en général.

En soumettant le virus charbonneux à un froid de 120 et 130° au-dessous de zéro, pendant vingt heures, malgré un pareil froid si longtemps prolongé, la bactérie n'a été ni détruite, ni atténuée ; nous avons déjà signalé pareil fait à propos du *bacillus anthracis*.

Si on place du virus frais dans un tube scellé et qu'on le chauffe à l'étuve, on constate que jusqu'à 65° la chaleur ne paraît pas produire d'effets sur la viru-

lence ; à 70° pendant deux heures et demie, à 80° pendant deux heures, ou à 100° pendant vingt minutes le virus est tué et son inoculation reste négative. Si l'on place le même virus frais dans un tube scellé, comme il vient d'être dit, non plus dans l'étuve, mais dans l'eau bouillante, un séjour de *deux minutes* dans ces conditions suffit pour le rendre inactif.

Le virus desséché peut se conserver indéfiniment avec sa virulence, à la température ordinaire ; ce virus desséché, légèrement humecté et placé à l'étuve, doit être chauffé à 85° pendant six heures, pour voir diminuer sensiblement sa virulence. En chauffant pendant six heures à 90, 95, 100 et 105°, on obtient des virus de plus en plus affaiblis; à 110° pendant le même laps de temps, on tue le contage.

Placé dans un tube et plongé dans l'eau bouillante, comme pour le virus frais, le virus desséché conserve toute son activité au bout d'une heure d'ébullition : il faut au moins deux heures de séjour dans l'eau bouillante pour voir disparaître la virulence du virus desséché.

Les bactéries du charbon symptomatique peuvent vivre côte à côte avec celles de la putréfaction, sans être détruites ; elles peuvent aussi supporter la présence du *bacillus anthracis* et les expériences de Chauveau ont montré que l'on pouvait, dans le même liquide, inoculer à la fois du sang de rate et le charbon symptomatique, et faire ainsi évoluer parallèlement les deux maladies chez le même animal.

Arloing, Cornevin et Thomas ont essayé l'action de

diverses substances chimiques sur la bactérie qui nous occupe ; ils ont donné une liste complète de l'action de ces substances ; citons quelques exemples :

Ne détruisant pas la virulence : alcool, chaux vive, tannin, iodoforme, eau oxygénée, essence de térébenthine, acide sulfureux, hydrogène sulfuré, ozone, eucalyptol.

Détruisant la virulence : acide phénique à $\frac{1}{100}$, acide salicylique à $\frac{1}{1000}$, iode, acides forts, sublimé corrosif à $\frac{1}{1000}$, nitrate d'argent à $\frac{1}{1000}$.

Expériences sur les animaux. — Si l'on veut aborder l'étude expérimentale du charbon symptomatique, il est bon d'être renseigné sur les espèces animales qu'on doit choisir comme sujets d'expérience. L'espèce bovine est la seule ou à peu près qui contracte la maladie spontanément ; on a signalé des cas chez l'agneau et le poulain, mais ce sont là des faits exceptionnels.

Venons maintenant à la maladie expérimentale. Le lapin qui contracte si facilement le sang de rate expérimental est réfractaire au charbon symptomatique.

Les espèces les plus favorables, sont : le bœuf, le mouton, le cochon d'Inde. En raison de son peu de valeur, c'est à cette dernière espèce qu'on aura recours pour les expériences de laboratoire ; cependant, il faut savoir que chez le cobaye, au bout d'un certain nombre d'inoculations successives, la virulence paraît diminuer et il arrive un moment où on leur donne une maladie non mortelle, qui les vaccine au lieu de les tuer.

Le porc, le chien, le chat, le rat, le canard, la poule, le pigeon sont réfractaires au charbon symptomatique.

Les grenouilles sont réfractaires au *bacterium Chauvæi* dans leur état normal, mais comme pour le sang de rate, il suffit de réchauffer la grenouille inoculée, en la plaçant dans l'étuve à 22° pour la voir contracter la maladie et mourir rapidement.

Etiologie de la maladie spontanée. — L'inoculation spontanée peut se faire directement dans le tissu conjonctif, à la suite d'une plaie, d'une piqûre de la peau ou de la muqueuse, soit par l'air, soit par les objets ou instruments qui ont causé la blessure.

L'infection naturelle peut aussi être effectuée par la voie digestive et la voie pulmonaire. Lorsque l'infection s'est produite par la surface cutanée, la maladie débute par un accident local, le premier symptôme sera une tumeur. C'est le *charbon essentiel* de Chabert; si la pénétration du virus se fait par la voie interne, les phénomènes généraux seront le début, et les tumeurs n'apparaîtront qu'ensuite; c'est le *charbon symptomatique proprement dit*. On voit quel parallèle on peut établir entre le charbon symptomatique et le sang de rate au point de vue des formes répondant aux divers modes d'inoculation spontanée. Les deux maladies présentent une forme interne et une forme externe, suivant la voie prise par la bactérie pour s'introduire dans l'organisme.

Arloing, Cornevin et Thomas ont montré que le charbon symptomatique pouvait s'inoculer à travers

le placenta et passer de la mère au fœtus ; cette transmission se fait plus facilement que pour le sang de rate ; peut-être ce fait trouve-t-il son explication dans la grande mobilité du *bacterium Chauvæi*. Cette transmission explique l'immunité héréditaire constatée par les expérimentateurs.

Thérapeutique et prophylaxie. — Nous avons dit plus haut que les moyens médicaux et chirurgicaux habituels étaient impuissants contre le charbon symptomatique.

Arloing, Cornevin et Thomas ont réussi à instituer une méthode de traitement prophylactique par les inoculations préventives, en donnant aux animaux un charbon bénin qui guérit spontanément en conférant l'immunité. On arrive au résultat par deux procédés différents :

1° En inoculant le virus naturel tel qu'on l'extrait d'une tumeur fraîche ;

2° En inoculant le virus atténué, le vaccin.

En piquant avec une lancette chargée d'une petite quantité de virus naturel le tissu conjonctif général, on réussit souvent à donner l'immunité sans accident ; mais comme il est difficile par ce procédé de régler exactement la nature virulente de la substance inoculée, les résultats sont inconstants et on a souvent des accidents ou des échecs, et, en tout cas, ce n'est pas là un moyen sûr et efficace de vaccination.

Il est préférable de faire cette inoculation à l'extrémité de la queue, l'expérience et l'observation ayant montré que les tumeurs emphysémateuses ne se

voient jamais en ces points ; cependant, si la dose du

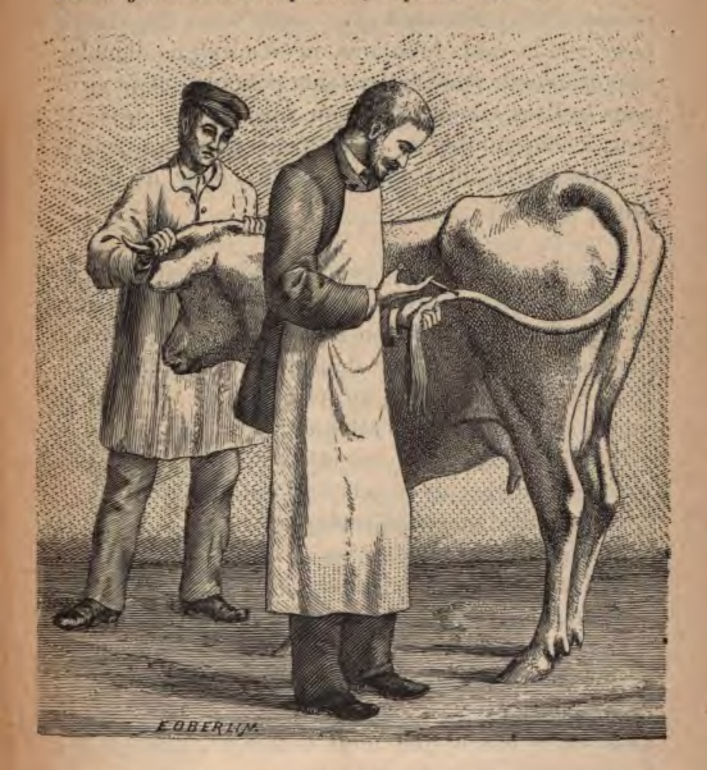


FIG. 123. — Vaccination contre le charbon symptomatique.

virus est très forte, on peut voir apparaître des tumeurs éloignées et la mort s'ensuivre.

Le meilleur procédé de vaccination avec le virus naturel frais est l'injection intra-veineuse, étant

donnée la tolérance très grande de l'espèce bovine pour le virus introduit par cette voie. On choisit pour cela la veine jugulaire, qu'on a soin de dénuder *parfaitement*, pour éviter toute pénétration du virus dans le tissu conjonctif et on injecte une dose de trois à cinq gouttes de virus frais pour les jeunes bovidés et trois dixièmes de goutte pour les moutons.

Virus atténué. — Le procédé d'inoculation préventive avec le virus naturel n'est pas toujours exempt de dangers, et, en tout état de cause, il est toujours d'une certaine délicatesse d'exécution qui rend sa généralisation un peu difficile et il vaut mieux avoir recours à l'atténuation du virus.

Quatre procédés peuvent être employés pour atténuer la virulence du charbon symptomatique :

1° Les substances antiseptiques ;

2° Les cultures successives ;

3° L'action de la chaleur sur le virus frais ;

4° L'action de la chaleur sur le virus desséché.

Les physiologistes lyonnais, après de nombreuses expériences, se sont arrêtés à ce dernier procédé, qu'ils considèrent comme préférable à tout autre ; aussi est-ce le seul que nous décrirons, renvoyant à leur ouvrage, pour les autres.

Il faut d'abord faire dessécher *rapidement* du virus frais avant l'apparition de toute putréfaction à la température de 32 à 35°.

Le virus desséché peut être chauffé à 85, 90°, sans rien perdre de son activité. Mais si on l'humecte

avant de le soumettre à l'étuve, on constate qu'une exposition de six heures à 90° lui enlève une partie de son énergie.

Le virus chauffé à 100° ou 104° convient pour donner un commencement d'immunité qu'on renforcera avec le virus chauffé à 90°.

Pour la pratique, voici comment l'on opère :

On place dans un petit mortier de verre une partie de virus desséché et deux parties d'eau qu'on mélange avec soin. On verse le liquide en couche mince au fond d'une soucoupe et on porte à l'étuve ; celle-ci est à bain d'huile, et réglée d'avance à la température voulue. L'exposition dans l'étuve dure sept heures. Il faut deux opérations successives, l'une pour le vaccin faible, l'autre pour le vaccin fort. Une fois l'opération terminée, on détache la croûte qui s'est formée au fond de la soucoupe, on la place dans un papier buvard et on l'enferme, *précaution indispensable*, dans une boîte ou sous une cloche avec du chlorure de calcium ou de la chaux vive pour éviter toute humidité. Pour l'usage, il faut réduire en poudre impalpable les petites masses de virus, on les concasse et on les mout dans un petit moulin analogue aux moulins à poivre; on a deux moulins, un pour chaque virus.

L'inoculation se pratique soit à la queue, vers le milieu du toupillon, où il existe un léger renflement (fig. 123) ou bien à la face externe de l'oreille. La vaccination se fait en deux fois, la première avec le virus faible, la seconde huit jours après avec le virus fort. On injecte chaque fois avec une seringue à injec-

tions sous-cutanées de huit à dix gouttes de liquide vaccinal obtenu en suspendant dans de l'eau stérilisée le virus atténué.

CHAPITRE V

LE ROUGET DU PORC

Le rouget, érysipèle malin ou mal rouge des porcs, est une maladie caractérisée par une éruption cutanée exanthématique, avec des lésions ulcéreuses, siégeant surtout dans la première portion du gros in-



FIG. 124. — Bacilles du rouget du porc dans un ganglion lymphatique (d'après Klein).

testin, et accompagnées de lésions inflammatoires sur les grandes séreuses (fig. 124).

L'autopsie révèle ces lésions ; les ganglions sont

tuméfiés, le péritoine, la plèvre, le péricarde sont recouverts d'une exsudation fibrineuse. Les poumons présentent des infarctus, ils sont congestionnés, quelquefois hépatisés. Klein a inoculé ces différentes exsudations à des porcs sains, et leur a donné les symptômes et les lésions du rouget spontané.

Les divers auteurs qui ont étudié le rouget du porc sont très divisés sur la morphologie du microbe qui cause la maladie, et il existe à ce sujet les plus grandes divergences.

Klein décrit des bacilles analogues au bacillus anthracis et au bacillus subtilis (fig. 125), il les compare

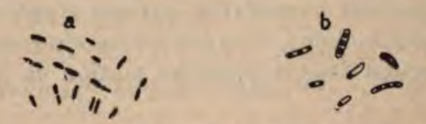


FIG. 125. — Bacilles du rouget du porc (d'après Klein).
a, dans une culture récente ; — *b*, dans une vieille culture.

aussi au leptothrix buccal ; les bâtonnets de Klein très gros auraient 5 μ de long.

Detmers décrit comme parasites du rouget des zooglées de micrococcus de 0 μ, 7 environ.

Pasteur n'a trouvé dans le sang et dans les liquides exsudés que des microbes ronds ou en 8.

Cornevin a retrouvé dans les cultures le microbe décrit par Pasteur, mais dans les cultures récentes il a vu des bâtonnets mobiles et courts.

Loëffler a trouvé dans la peau des porcs des masses de bacilles qui ressemblent à ceux de la septicémie des souris. Il a cultivé ces bacilles, mais l'inoculation

de ces cultures à des porcs n'a produit aucun phénomène anormal chez ces animaux. Loëffler croit que cette immunité tient à la race dont il s'est servi pour ses expériences.

Schütz a trouvé des bacilles qu'il a cultivés et dont l'inoculation à des porcs de race anglaise a causé la mort des animaux en trois ou quatre jours.

Schütz a constaté que le vaccin du rouget fourni par Pasteur contient des bacilles en même temps que d'autres organismes non pathogènes.

Une première inoculation non mortelle chez les lapins et les porcs confère l'immunité.

Pasteur et Thuillier ont atténué le virus du rouget des porcs, en le faisant passer par le lapin. On inocule un lapin avec le sang d'un porc atteint de rouget, l'animal meurt ; si on prend le sang de ce lapin et qu'on le cultive, on obtient un virus qui donne aux porcs une maladie atténuée dont ils ne meurent pas,



FIG. 126. — Bacilles du rouget du porc dans le sang d'un pigeon.

et qui leur confère l'immunité contre la maladie spontanée pendant environ un an.

Le passage dans le sang du pigeon exalte au con-

traire la virulence et peut faire revenir le vaccin à sa puissance primitive (fig. 126).

Pour colorer les bacilles du rouget du porc, on emploie avantageusement la méthode de Gram ou le procédé de Loëffler.

Les bacilles du rouget se cultivent facilement dans le bouillon de lapin, le liquide de l'hydrocèle, la gélatine-peptone et l'agar-agar. Ils ne liquéfient pas la gélatine.

Cornil pense que la plupart des auteurs n'ont pas vu le microbe véritable du rouget et que le bacille spécifique est celui de Loëffler et Schütz. Nous pensons, pour nous, que les divergences des auteurs s'expliquent facilement, et il est probable qu'on décrit sous le nom de rouget plusieurs maladies éruptives ayant des microbes différents

---

CHAPITRE VI

LE CHOLÉRA DES POULES

Le choléra des poules est une maladie qui sévit sur les volailles des basses-cours, et qui les décime parfois; bien que cette maladie n'ait aucune affinité avec le choléra humain, nous garderons le mot dont l'usage a prévalu.

Historique. — La première observation de choléra des poules a été faite en 1789, en Lombardie. En 1830 et en 1849, la maladie apparut aux environs de Paris. Elle fut alors étudiée par deux professeurs d'Alfort, Renault et Delafond.

En 1878, Perroncito, professeur à l'Ecole vétérinaire de Turin, découvrit dans le sang des poules mortes le micrococcus spécifique de la maladie.

En 1879, Toussaint confirma cette découverte et apporta de nouvelles preuves.

En 1880, Pasteur fit des cultures pures du parasite et réussit à fabriquer un virus atténué avec lequel on peut préserver les animaux de la maladie par une vaccination préventive.

Symptômes de la maladie. — Pasteur a décrit deux types cliniques de la maladie : une forme aiguë et une forme chronique.

Dans la forme aiguë on observe un état d'hébétude et de somnolence prolongées ; les volatiles sont par terre, les yeux fermés, les plumes hérissées, immobiles et insensibles : l'animal se traîne péniblement, il recherche le soleil ; sa crête d'abord violacée devient noire ; en même temps, il est pris d'une diarrhée séro-muqueuse abondante, et bientôt il succombe après une courte agonie entrecoupée de quelques convulsions.

Quelquefois la forme aiguë prend une marche foudroyante, et les poules succombent après quelques heures seulement de maladie. Dans la forme aiguë, la guérison est très rare.

La forme chronique, offre à peu près les mêmes caractères, mais avec une intensité moindre, et souvent après la production de quelques abcès, la maladie évolue favorablement ; le choléra chronique peut se prolonger pendant des semaines, mais il se termine souvent par la guérison.

Lésions anatomiques. — A l'autopsie des poules mortes du choléra, on trouve des inflammations et des ulcérations profondes de l'intestin, des abcès des divers organes, une dégénérescence graisseuse de certains muscles. Le foie est volumineux, brun comme dans beaucoup de maladies infectieuses ; beaucoup d'organes présentent des lésions asphyxiques, pétéchies, ecchymoses, suffusions sanguines. Dans deux

cas qu'il nous a été donné d'observer, il y avait une infiltration purulente du péricarde et de la plèvre.

La bactérie. — Dans le sang, dans les abcès, dans la muqueuse intestinale, dans la diarrhée on retrouve la bactérie qui cause la maladie.

Elle se présente (fig. 127) sous la forme de micrococcus de 2 à 3 μ de diamètre quelquefois unis deux



FIG. 127. — Microbe du choléra des poules (d'après Pasteur).

à deux en 8. Dans les tissus on les voit comme des petits bâtonnets dont le milieu est légèrement étranglé et dont les deux extrémités se colorent mieux que le centre. Les bactéries du choléra des poules n'ont pas une technique histologique spéciale et se colorent bien par les procédés généraux de coloration des bactéries.

Cultures. — Pasteur a cultivé la bactérie du choléra des poules dans le bouillon de poulet neutralisé et stérilisé; la culture se fait bien entre 25 et 35° centigrades. Dans les cultures récentes, les bactéries ont plutôt la forme de bâtonnets comprimés au milieu;

dans des cultures plus vieilles elles prennent la forme de diplococcus et plus tard le bouillon, qui était tout d'abord légèrement laiteux, devient limpide en même temps que les bactéries se résolvent sous forme d'une fine poussière, il n'y a cependant pas destruction du microbe, car avec ces granulations on peut instituer de nouvelles cultures.

Cette bactérie peut se cultiver sur la gélatine peptone; on voit apparaître au bout d'une période de trois à sept jours les cultures sous forme de strie grisâtre à la place de la piqûre, et à la surface la culture prend la forme d'une petite pellicule arrondie et transparente. Sur de la gélatine inclinée les colonies se montrent sous forme d'un fil grisâtre à peine perceptible et même après plusieurs semaines le développement est peu marqué. Cette bactérie ne liquéfie pas la gélatine.

Physiologie pathologique et inoculations. — La bactérie du choléra des poules est aérobie; aussi attribue-t-on son action pathogène à l'absorption de l'oxygène du sang; d'où les symptômes et les lésions asphyxiques constatés pendant la vie et à l'autopsie.

Les lésions produites au point d'inoculation ont été bien étudiées par Pasteur et Cornil. Pasteur faisait les inoculations virulentes aux poulets dans le tissu cellulaire voisin du muscle pectoral; il a démontré qu'une partie du muscle s'altère et s'isole du muscle sain, en s'entourant d'une membrane pyogénique; il a nommé pour cela cette portion altérée *séquestre*. Sur les fibres musculaires, il se fait une

fragmentation transversale des faisceaux primitifs, due à la pénétration des bactéries dans le sarcolemme ; il se produit dans la fibre musculaire des lacunes, qui se comblent de cellules lymphatiques et de microbes. Pasteur a pu inoculer des cultures du choléra des poules à d'autres animaux ; les lapins succombent le plus souvent, mais les cobayes résistent en général ; ils ne présentent que des lésions localisées au point d'inoculation, sous forme d'abcès dans lesquels on retrouve des masses de bactéries, qui, inoculées aux poules, les font mourir du choléra.

La bactérie du choléra des poules sécrète une ptomaïne, qui joue un certain rôle dans les symptômes de la maladie et lui donne les allures d'un empoisonnement par l'opium. Si en effet, on filtre sur du biscuit de porcelaine une culture de cette bactérie, le liquide filtré ne donne plus la maladie, même injecté à la dose de 120 grammes dans le sang d'une poule ; mais les animaux ainsi traités deviennent somnolents et tombent dans une sorte de coma ; au bout de quelques heures, tout s'efface et la poule reprend tout à fait son état normal.

Mécanisme de l'infection spontanée. — Pasteur, en arrosant du pain qu'on donnait en pâture aux poules, avec des cultures pures de la bactérie du choléra des poules, a déterminé les phénomènes principaux de la maladie, accompagnés de diarrhée et suivis de mort. C'est de cette manière que se fait dans les basses-cours la propagation de la maladie ; les volailles frappées par le choléra, sont prises de diarrhée

et elles répandent sur le sol des excréments muqueux chargés des germes meurtriers. Ces germes se répandent dans le fumier et dans la terre où les animaux vont picorer, et sont avalés par les poules en bonne santé qui deviennent ainsi malades.

Thérapeutique et prophylaxie.— La première condition consiste à isoler les poules malades, à évacuer le poulailler, et à le désinfecter complètement. Mais à côté de ces mesures hygiéniques, il faut placer la pratique des inoculations préventives.

Le vaccin du choléra des poules est le premier virus atténué qui ait été découvert, et il a servi à donner la méthode générale d'atténuation de la virulence des bactéries. Pasteur attribue cette atténuation à l'action prolongée de l'oxygène ; en pratique, pour la réaliser, on maintient les cultures pendant des semaines et des mois à l'étuve, et plus on s'éloigne du point de départ, plus la virulence diminue. Si, à un moment donné, on fait une prise de semence de culture, on peut fixer le degré de virulence actuellement existant, et on arrive ainsi à fabriquer une série de virus de plus en plus atténués. Ces virus atténués injectés aux poules causent une lésion locale, sans déterminer la mort, et rendent ensuite l'animal réfractaire aux inoculations virulentes. Cette immunité se conserve pendant environ une année ; mais si les animaux ont été vaccinés avec un virus trop faible, qui n'a pas produit de lésion locale, l'immunité n'est pas conférée et l'animal peut succomber à une atteinte de la maladie, ou à l'inoculation virulente.

On peut effectuer le retour à la virulence, en passant par d'autres organismes; un vaccin inoffensif pour les poules peut tuer un moineau; en inoculant une série de moineaux, la virulence va en croissant, et il arrive un moment où le virus a recouvré toute son action infectieuse.

CHAPITRE VII

LES SEPTICÉMIES

Si nous n'avions pas dans un précédent chapitre, établi une importante distinction dans le rôle pathogénique des bactéries, nous serions fort embarrassé pour donner de la septicémie une définition convenable, et à vrai dire, il est impossible de trouver dans aucun ouvrage de bactériologie une définition qui puisse s'appliquer à toutes les maladies si diverses, englobées dans le grand chapitre des septicémies.

Nous avons en effet établi, que, si on considère les bactéries dans leur rapport avec les maladies, on peut les diviser en deux classes : d'une part les bactéries typiques, spécifiques; ces bactéries injectées aux animaux reproduisent toujours la même maladie avec les mêmes lésions; il y a seulement des différences de détail dans les modalités cliniques, suivant les espèces animales et le mode d'inoculation. Si l'on tombe sur une espèce qui n'est pas capable de contracter la maladie typique, la bactérie spécifique reste sans aucun effet; exemple, le charbon pour le chien. Rappelons que jusqu'ici on ne connait vérita-

blement que deux bactéries typiques, celle du charbon et celle de la tuberculose.

Nous avons d'autre part admis une seconde classe, la plus importante, les bactéries indifférentes; ces bactéries produisent des maladies totalement différentes suivant les espèces auxquelles on les injecte; inoffensives pour les uns, elles sont mortelles pour les autres, et ce qui les caractérise, c'est l'absence de lésions typiques toujours identiques. Ces bactéries, une fois sorties de l'espèce animale où elles se développent spontanément, produisent des maladies expérimentales qui sont des septicémies, lorsqu'elles sont placées dans un milieu animal où elles peuvent évoluer.

Il est un certain nombre de septicémies qui n'affectent pas du tout les allures des maladies bactériennes et qui se rapprochent au contraire énormément des empoisonnements; aussi doit-on élargir d'autant le cadre de ces affections. Nous définirons donc les septicémies « des maladies causées par l'introduction dans l'organisme de bactéries indifférentes ou des substances toxiques secrétées par ces bactéries » ; à l'état spontané, les deux causes sont inséparables et opèrent ordinairement de concert.

Prenons des exemples : on admet aujourd'hui que le bacille de Gaffky est typique de la fièvre typhoïde chez l'homme. Quoi qu'on en ait dit, ce bacille injecté aux animaux ne produit que des septicémies à lésions variées. Le bacille de la pneumonie injecté aux animaux produit la septicémie.

La salive humaine contient des bactéries, parfaite-

ment inoffensives pour nous, mais qui sont rapidement mortelles pour certaines espèces, les lapins par exemple qui succombent à une septicémie. Ces considérations générales sur le sens à donner au terme de septicémie font dores et déjà prévoir que le nombre de ces maladies sera considérable; c'est en effet ce que la pratique démontre, et l'on découvre journellement des formes nouvelles d'infections septiques. Un point est cependant commun à toutes ces maladies, la gravité des accidents résultant de l'intoxication septicémique. Pour faciliter la compréhension des diverses septicémies, nous avons cherché à établir des divisions, permettant de ranger ensemble les septicémies qui ont des caractères communs, et voici à quelle classification nous nous sommes arrêtés.

Il y a trois sortes de septicémies :

1° *Septicémies suppuratives* qui ont pour caractéristique la présence du pus, quelle que soit d'ailleurs la disposition anatomique qu'il affecte;

2° *Septicémies septiques* ou *toxiques*, dans lesquelles la seule lésion est la présence dans les organes et les humeurs des bactéries septiques; le phénomène prédominant de cette classe est l'intoxication;

3° *Septicémies putrides* dont la caractéristique est la décomposition des tissus, la nécrose, la gangrène.

Certes, cette division est loin d'être absolue et ce n'est là qu'une simple tentative; en effet, il y a des maladies qui peuvent se ranger à la fois dans deux de ces classes : c'est ainsi que l'endocardite ulcéreuse affecte tantôt des formes pyohémiques, tantôt des

formes septicémiques vraies ; c'est ainsi que dans l'infection puerpérale, la mort peut arriver par simple septicémie, ou par la suppuration.

Nous pensons cependant que notre division doit être conservée et que ces anomalies tiennent surtout à l'incertitude qui règne encore sur la marche et la nature de ces maladies ; pour ne prendre qu'un exemple, l'endocardite ulcéreuse est-elle une seule et même maladie avec différentes formes cliniques ? La réponse n'est pas douteuse : si les cliniciens frappés de la fréquence des lésions de l'endocarde ont fait de cette maladie une entité morbide, il est probable que cette entité va devenir quelque jour l'objet d'une dislocation. Selon nous, quelle que soit l'importance de la lésion endocardique, elle n'est pas primordiale, ce n'est qu'un épiphénomène commun à plusieurs ordres d'intoxication puerpérale, pneumonique, chirurgicale ou autre. Ces principes une fois posés, il ne nous reste plus qu'à donner une description forcément succincte des formes multiples de septicémie et des bactéries qui les déterminent. Après avoir décrit les maladies septiques spontanées, nous consacrerons quelques pages à l'étude des septicémies expérimentales.

A. **La suppuration**. — Depuis longtemps, les histologistes et les chirurgiens avaient signalé dans le pus la présence de bactéries, mais c'est récemment seulement qu'on a saisi la relation de cause à effet existant entre le microbe et l'abcès.

Les travaux qui ont contribué à éclaircir ce sujet

sont ceux de Rosenbach, Pasteur et surtout de Strauss, et actuellement on peut dire : *Pas de microbes, pas de suppuration.*

Les succès obtenus par l'antisepsie chirurgicale montrent que la clinique et l'histologie sont d'accord pour rendre cette proposition évidente.

Plusieurs espèces microbiennes peuvent engendrer la suppuration, en voici la liste succincte :

1° *Le microbe pyogénique de Pasteur*, que cet auteur a trouvé dans l'eau de la Seine. Injecté sous la peau il produit des abcès locaux; dans les veines il amène l'infection purulente avec abcès métastatiques;

2° *Staphylococcus aureus* (Rosenbach) (fig. 128), culture de couleur jaune d'or sur l'agar-agar à 37°, liquéfie la gélatine, se cultive bien sur les pommes de terre et le sérum (Planche I);



FIG. 128. — Staphylococcus pyogenes aureus. D'après une culture sur gélatine-peptone, ensemencée avec du pus d'ostéomyélite aiguë.

3° *Staphylococcus flavescens* (Babès), cultures blanches sur la gélatine qu'il liquéfie;

4° *Staphylococcus pyogenes albus* tache de couleur blanche éclatante, liquéfie la gélatine;

5° *Staphylococcus pyogenes citreus* (Passet), sem-

blable au précédent sauf que la culture est jaune citron;

6° *Micrococcus pyogenes tenuis* (Rosenbach) cultures très fines à peine visibles à l'œil nu;

7° *Streptococcus pyogenes.* Cet organisme est un chapelet (fig. 129). La planche est dessinée d'après une de nos préparations faite avec le pus d'une pleu-



FIG. 129. — Streptococcus pyogenes.

Figure dessinée d'après une préparation de pus de pleurésie purulente d'emblée. — Objectif n° 10 à imm. homogène. (Nachet. Oculaire 2.)

résie purulente d'emblée. L'inoculation de ce liquide n'a pas produit d'abcès métastatique, chez un lapin, mais une septicémie à laquelle il a succombé en 36 heures. Il ne liquéfie pas la gélatine sur laquelle il donne une pellicule ronde un peu blanchâtre.

Parmi les microbes du pus, les plus communs sont le *staphylococcus aureus* et le *streptococcus pyogenes.*

Furoncle et anthrax. — Les organismes trouvés dans ces deux affections, qui sont identiques, sont des staphylococcus. On les voit sous forme de cocci sphé-

riques unis deux à deux ou en amas. On ne les a jamais trouvés dans le sang, et il est probable que la propagation se fait par la surface cutanée plus ou moins ramollie ou excoriée. Ils se cultivent bien dans l'eau de levûre et dans le bouillon de poule. Inoculés aux lapins, ils donnent des abcès locaux; bien qu'ils ne se cultivent pas dans l'eau sucrée, l'organisme des diabétiques paraît un milieu de prédilection pour ces microbes.

Abcès chauds. Phlegmon. — Les bactéries se montrent, soit sous forme de chaînettes, soit sous forme de diplococcus; on voit aussi des grains isolés.

Pyohémie. Abcès métastatiques. — La pyohémie ou infection purulente a pour caractéristique la formation d'abcès secondaires, dits métastatiques. Quel est le mécanisme de la production des abcès métastatiques? On pensait autrefois qu'il se passait à la surface de la lésion purulente primitive une résorption des globules du pus qui allait former des embolies de globules blancs, lesquels, en proliférant, donnaient le jour à un nouvel abcès. Les injections de pus dans les veines des animaux ont ruiné cette manière de voir, car elles ne produisent pas la pyohémie. Il n'en est plus de même de l'injection des cultures de microbes pyogènes qui, introduits dans le système veineux, produisent à coup sûr la pyohémie.

Les abcès métastatiques peuvent exister dans tous les organes viscéraux ou périphériques; ils ont pour origine des embolies septiques produites par l'absorption des bactéries pyogènes dans le foyer purulent

primitif. Sur la coupe de ces abcès, on trouve les capillaires de l'organe gorgés de micrococci analogues à ceux qu'on rencontre dans la plaie qui a donné lieu à la pyohémie. Pendant la vie, on peut retrouver des microbes dans le sang des pyohémiques.

Ostéomyélite. — Cette maladie est spéciale aux adolescents, et il faut attribuer sans doute la localisation de la suppuration à la suractivité fonctionnelle qui règne chez ces individus au niveau de l'épiphyse des os longs pendant la croissance. Pasteur a retiré dans le pus d'un os des coccis doubles ou en amas qu'il a, le premier, identifiés avec ceux du furoncle, c'est-à-dire le *staphylococcus pyogenes aureus*. Depuis, les observations ont toujours confirmé cette manière de voir.

Les injections intra-veineuses aux lapins des cultures du micro-organisme de l'ostéomyélite, amènent la mort avec des foyers multiples de suppuration et d'ostéomyélite, surtout si l'on a déterminé des traumatismes sur les os.

B. **Septicémies proprement dites.** — La septicémie proprement dite est également caractérisée par l'introduction dans l'économie de microbes qui peuvent s'y développer, mais elle diffère essentiellement de la classe précédente en ce qu'il ne se produit pas de pus ou d'abcès métastatiques, l'intoxication septique tenant au contraire la première place.

Septicémie puerpérale. — Cette forme de septicémie est, ainsi que nous l'avons dit, quelque peu

commune aux deux premières classes de notre division, car on peut voir se produire du pus ; mais il est ordinairement limité au péritoine, et ne produit pas d'abcès métastatiques. Pasteur et Doléris ont étudié les microbes de la septicémie puerpérale, et ce dernier en a donné une très belle étude dans sa thèse inaugurale. Il distingue plusieurs variétés de microorganismes :

1° De grandes bactéries en filament, qu'on trouve peu de temps seulement avant la mort ; c'est le vibrion septique de Pasteur ; elles sont en rapport avec les septicémies à marche rapide ;

2° Des micrococques en chapelet ;

3° Des micrococques en points doubles ;

4° Des micrococques en points simples, isolés ou en amas.

Pasteur et Doléris ont trouvé toutes ces bactéries dans le sang des femmes atteintes de septicémie puerpérale et ils les ont cultivées.

La septicémie puerpérale ne diffère donc pas des septicémies chirurgicales, et les mêmes moyens antiseptiques peuvent la combattre efficacement.

Endocardites infectieuses. — Ainsi que nous l'avons dit plus haut, il est difficile d'envisager, aujourd'hui, l'endocardite ulcéreuse comme une entité morbide dont l'unité soit parfaitement définie ; c'est un accident qui peut se produire au cours d'une foule d'états pathologiques ; c'est une affection toujours secondaire, et on ne saurait mieux la comparer qu'à ces formes de broncho-pneumonies qui accom-

pagnent d'ordinaire les maladies infectieuses graves.

L'importance des lésions relève de ce fait de la localisation des principes septiques sur l'organe central de la circulation, qui va procéder ensuite à une distribution néfaste aux divers organes. Le développement de l'endocardite infectieuse se fait de deux manières différentes :

Dans un cas, il y a quelque part une solution de continuité, une plaie, un foyer de suppuration. Exemple : la puerpéralité. Dans l'autre, il n'y a pas de porte d'entrée apparente, mais la maladie éclate chez les surmenés, les alcooliques, etc...; ce n'est donc pas là encore une véritable spontanéité morbide.

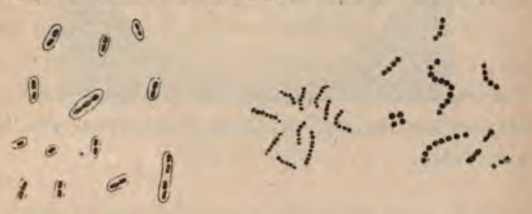


FIG. 130. — Diverses variétés de bactéries trouvées dans l'endocardite infectieuse.

L'idée que nous soutenons ici est corroborée par la multiplicité des espèces que l'on trouve dans les valvules du cœur et dans les lésions secondaires au cours des endocardites infectieuses. Netter a fait de ces divers microbes une étude suivie et intéressante dont les résultats sont exposés succinctement par le professeur Jaccoud, dans ses dernières leçons de cli-

nique médicale de la Pitié. Nous avons eu nous-même l'occasion d'examiner plusieurs cas d'endocardite ulcéreuse, et nous donnons (fig. 130 et 131) la reproduction des formes bactériennes observées par M. Netter et par nous-même.

FIG. 131. — Diverses variétés de bactéries trouvées dans l'endocardite infectieuse.

Septicémie chronique. — Nous n'avons rien à dire au point de vue des bactéries de la septicémie chronique; c'est un état engendré par la rétention du pus ou des liquides pathologiques à l'intérieur des abcès froids ou dans les suppurations chroniques osseuses ou viscérales.

C. **Septicémie putride.** — *Gangrène gazeuse.* — Nous n'avons pas à parler ici des gangrènes simples produites par des embolies microbiennes; ce sont là des causes mécaniques banales, et, dans ces cas, la gangrène peut ne pas être septique. Nous avons surtout en vue une redoutable complication des plaies, appelée aussi emphysème gangréneux, gangrène foudroyante, érysipèle bronzé. Cette terrible complication ne se voit plus guère à la suite des plaies chirurgicales, grâce aux progrès de l'antisepsie, mais

on la voit encore quelquefois à la suite des grands traumatismes, et il nous a été donné d'en voir un cas à la suite d'une fracture compliquée de la cuisse.

D'après Chauveau et Arloing, le micro-organisme



FIG. 132. — Vibrion septique de Pasteur dans du sang septicémique.

qui cause la septicémie gangréneuse n'est autre que le vibrion septique décrit par Pasteur (fig. 132). Cette bactérie est anaérobie d'une longueur de 5 à 6 μ. Dans le sang, elle s'allonge beaucoup et se présente alors sous forme de longs filaments mobiles qui semblent ramper entre les globules du sang.

On peut le cultiver dans les bouillons Pasteur, dans le vide ou dans l'acide carbonique. A un certain degré de son évolution, il se présente sous forme d'un gros bâtonnet avec une spore à son extrémité. Il est très résistant et supporte sans peine, lorsqu'il est des-

séché, une température de 60 à 90° C. Il est facilement détruit par l'acide sulfureux. L'inoculation de ce vibrion réussit surtout dans le tissu conjonctif, et les animaux meurent avec tous les accidents de la gangrène gazeuse. Il n'en est pas de même

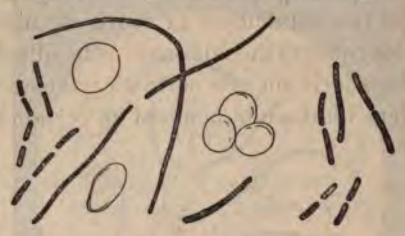


FIG. 133. — Bacille de l'œdème malin (d'après Koch).
Cet organisme est identique au vibrion septique de Pasteur.

de l'injection intra-veineuse, qui est assez bien supportée, pourvu que la dose ne soit pas massive relativement au poids de l'animal. L'ingestion par le tube digestif ne produit aucun trouble.

Nous donnons ici un résumé de quelques septicémies expérimentales; cette étude succincte ne présente qu'un intérêt direct médiocre, et nous avons vu que le nombre des septicémies pourrait sans doute être multiplié à l'infini; elles ont été placées ici seulement dans le but de faire connaître les méthodes suivies par les auteurs pour arriver à les produire.

D. **Septicémies expérimentales**. — *Septicémie des souris* (Koch). — Koch a réussi à produire chez les souris une maladie expérimentale en leur injectant

quelques gouttes de sang putréfié ; et il put reproduire la maladie chez un grand nombre de souris par des inoculations en série. Elle est produite par un tout petit bacille de 0,8 à 1 μ de long, immobile; la souris des champs est rebelle à l'inoculation de ce bacille qui tue fatalement la souris de maison. Les lapins et les cobayes inoculés avec le bacille de la septicémie des souris ont une sorte d'érythème local qui leur confère l'immunité pendant un certain temps.



FIG. 134. — Bacille de la septicémie des souris.

On cultive facilement ce bacille sur la gélatine-peptone simple ou additionnée d'un peu de phosphate de soude. Les organes des animaux morts de cette maladie seront examinés après durcissement à l'alcool absolu et coloration par la méthode de Gram.

Septicémie du lapin. — Koch a produit cette maladie en injectant au lapin une infusion de viande putréfiée sous la peau du dos.

Septicémie de Charrin. — Cet auteur a constaté que, en inoculant quelque temps après la mort le sang ou des fragments d'organes, provenant de lapins

morts du charbon, on voyait se développer une septicémie. Cette maladie est causée par un microbe en forme de chaînettes à grains très fins, que l'on



FIG. 135. — Coupe d'un glomérule du rein, contenant des chaînettes caractérisant la septicémie de Charrin consécutive au charbon chez le lapin.

trouve dans le sang des animaux qui ont succombé à cette septicémie, ainsi que dans les viscères (fig. 135).

On pourrait multiplier beaucoup le nombre de ces exemples; on connaît encore plusieurs autres septicémies expérimentales, et il est probable que la liste ne fera ultérieurement que grandir encore.

CHAPITRE VIII

L'ÉRYSIPÈLE

Historique. — Pendant longtemps l'érysipèle a été considéré comme une inflammation spontanée.

En 1777, Lorry émit le premier l'hypothèse de la contagiosité de l'érysipèle. Cette idée fut tour à tour acceptée et rejetée par les pathologistes.

En 1834, Piorry niait la spontanéité de l'érysipèle, et admettait que cette maladie reconnaissait toujours, comme point de départ, l'absorption d'un principe septique par la surface cutanée.

En 1844, Trousseau établissait que non seulement, ainsi que l'admettait Velpeau, l'érysipèle était causé par l'introduction dans l'organisme de matières venues du dehors, mais que dans tous les cas une solution de continuité des téguments, était la porte d'entrée nécessaire au contage érysipélateux. Actuellement la doctrine de la contagion paraît être universellement adoptée.

La première notion de la nature parasitaire de l'érysipèle se trouve dans la thèse inaugurale du Dr Ch. Martin (1865, Paris), au lendemain des expé-

riences de Pasteur sur la génération spontanée et il attribue la contagion de l'érysipèle aux bactéries venues de l'air, qui les dépose à la surface des plaies.

En 1869, Hueter décrit, dans la sérosité des phlyctènes érysipélateuses, le même *Monas crepusculum* qu'il avait montré l'année précédente dans les plaques diphtéritiques. Aussi considère-t-il l'érysipèle comme une diphtérie diffuse des téguments.

En 1870, Nepveu publie le résultat de ses recherches beaucoup plus précises que celles de Hueter, et, en assimilant les corpuscules qu'il décrit dans l'érysipèle au *bacterium punctum*, il se rapproche beaucoup plus de la vérité.

En 1872, Wilde décrit un micrococcus recueilli dans le pus de la plaie point de départ de l'érysipèle.

En 1873, Orth décrit dans les phlyctènes érysipélateuses des bactéries sphériques, isolées ou en chapelets immobiles. Il fait des inoculations à des lapins avec le liquide des phlyctènes et produit des abcès, des rougeurs érysipélateuses et des infections générales.

La même année, Pitoy constate les mêmes bactéries.

En 1880, Doléris voit la bactérie érysipélateuse et la cultive.

C'est Fehleisen, en 1881, qui a établi définitivement la nature bactérienne de l'érysipèle; ses recherches ont été pleinement confirmées par les observations ultérieures.

En 1886, le D[r] M. Denucé a fait de la pathogénie de l'érysipèle et de l'étude de son organisme pathogène une monographie très complète.

Morphologie. — Le microbe de l'érysipèle. *Streptococcus erysipelatus*, est un microcoque rarement isolé, se présentant souvent sous l'aspect de



FIG. 136. — Streptococcus de l'érysipèle.

diplococcus, mais en général disposé en chaînettes (fig. 136) de 5 à 15 grains, tous égaux entre eux ; ces chaînettes ont une disposition plus ou moins sinueuse ; chaque anneau de la chaînette de streptococcus de



FIG. 137. — Coupe d'un espace lymphatique du derme contenant des streptocoques de l'érysipèle.

l'érysipèle est exactement arrondi et possède un diamètre de 0 μ, 3.

Sur des coupes de la peau (fig. 137) les chaînettes

riences de Pasteur sur la génération spontanée et il attribue la contagion de l'érysipèle aux bactéries venues de l'air, qui les dépose à la surface des plaies.

En 1869, Hueter décrit, dans la sérosité des phlyctènes érysipélateuses, le même *Monas crepusculum* qu'il avait montré l'année précédente dans les plaques diphtéritiques. Aussi considère-t-il l'érysipèle comme une diphtérie diffuse des téguments.

En 1870, Nepveu publie le résultat de ses recherches beaucoup plus précises que celles de Hueter, et, en assimilant les corpuscules qu'il décrit dans l'érysipèle au *bacterium punctum*, il se rapproche beaucoup plus de la vérité.

En 1872, Wilde décrit un micrococcus recueilli dans le pus de la plaie point de départ de l'érysipèle.

En 1873, Orth décrit dans les phlyctènes érysipélateuses des bactéries sphériques, isolées ou en chapelets immobiles. Il fait des inoculations à des lapins avec le liquide des phlyctènes et produit des abcès, des rougeurs érysipélateuses et des infections générales.

La même année, Pitoy constate les mêmes bactéries.

En 1880, Doléris voit la bactérie érysipélateuse et la cultive.

C'est Fehleisen, en 1881, qui a établi définitivement la nature bactérienne de l'érysipèle; ses recherches ont été pleinement confirmées par les observations ultérieures.

En 1886, le Dr M. Denucé a fait de la pathogénie de l'érysipèle et de l'étude de son organisme pathogène une monographie très complète.

Morphologie. — Le microbe de l'érysipèle. *Streptococcus erysipelatus*, est un microcoque rarement isolé, se présentant souvent sous l'aspect de



FIG. 136. — Streptococcus de l'érysipèle.

diplococcus, mais en général disposé en chainettes (fig. 136) de 5 à 15 grains, tous égaux entre eux; ces chaînettes ont une disposition plus ou moins sinueuse; chaque anneau de la chaînette de streptococcus de



FIG. 137. — Coupe d'un espace lymphatique du derme contenant des streptocoques de l'érysipèle.

l'érysipèle est exactement arrondi et possède un diamètre de 0 μ, 3.

Sur des coupes de la peau (fig. 137) les chainettes

sont situées par groupes dans les espaces interfasciculaires, dans les vaisseaux lymphatiques du derme et dans le pannicule adipeux sous-dermique.

On trouve aussi les chaînettes dans le liquide des phlyctènes, mais non pas d'une manière constante ; du moins on ne les trouve pas toujours par le procédé de recherche habituel sur couvre-objets.

Procédé de coloration. — L'examen histologique est très facile à pratiquer et peut se faire, soit en préparations extemporanées, soit en préparations persistantes.

Pour les premières, on dépose sur une lame porte-objet, une gouttelette du liquide à examiner, qu'on recouvre avec une lamelle couvre-objet. Sur le bord de la lamelle, on met une goutte de solution d'Ehrlich au violet de méthyle 6 B. La matière colorante pénètre par capillarité, et l'examen peut être pratiqué immédiatement.

Pour les préparations persistantes, on étend une goutte de liquide sur des lamelles qu'on colore, après dessiccation, en les immergeant quelques minutes dans un bain de solution colorante. On décolore par l'alcool absolu et l'essence de girofle et on monte dans le baume au xylol.

Il n'est pas rare d'observer par ces procédés d'autres micrococcus, et, dans ces cas, on voit toujours survenir des complications. Nous y reviendrons.

Recherche clinique. — Deux méthodes peuvent être employées pour rechercher le microbe de l'éry-

sipèle. La meilleure consisterait à enlever des fragments de peau sur les plaques d'érysipèle en pleine évolution. Malheureusement, quelle que soit l'excellence de cette méthode, elle ne peut pas être d'un usage courant; en effet, pratiquer une plaie sur une surface érysipélateuse n'est pas toujours inoffensif et d'ailleurs, comme cette petite opération est douloureuse, les malades consentiront rarement à la subir.

La seconde méthode à employer, celle que l'on peut toujours mettre en pratique, a l'inconvénient de ne pas renseigner sur la topographie du streptocoque dans les lésions cutanées; mais, aussi bien que la première, elle permet de constater avec précision la présence des bactéries. On commence par désinfecter soigneusement la peau par les lavages au savon, au sublimé, à l'alcool et à l'éther. Puis avec une pointe d'aiguille stérilisée au moment même en la chauffant au rouge, on fait une piqûre pénétrant jusque dans le derme. On peut aussi, après les lavages, recouvrir la peau d'une couche de collodion élastique, et faire la piqûre à travers le collodion. Il s'écoule une gouttelette de sang qu'on enlève avec l'aiguille promenée à plat, la deuxième goutte est plus claire, teintée en rose; au moyen d'une pipette stérilisée on recueille cette goutte et, en plongeant l'extrémité effilée dans la piqûre, on va chercher le liquide au milieu des tissus malades.

Recherche sur le cadavre. — Il ne faut guère songer à rechercher le streptococcus de l'érysipèle sur le

cadavre dans les conditions où l'on pratique habituellement les autopsies. Il est donc indispensable, si l'on veut examiner des coupes de peau, de les prendre sur le vivant ou tout au moins, lorsque cela sera possible, immédiatement après la mort. Les fragments de peau seront placés dans l'alcool absolu et coupés après durcissement dans ce liquide seul.

Culture du streptococcus erysipelatus. — Si l'on veut se contenter d'étudier la morphologie et l'accroissement des chaînettes de ce streptococcus, les méthodes de culture dans les bouillons liquides par les procédés de Pasteur sont, sans contredit, les meilleures. Si l'on veut étudier la forme des cultures, on a recours aux méthodes sur milieux solides où se développent des colonies caractéristiques; les meilleurs sont la gélatine-peptone, le sérum gélatinisé et l'agar-agar.

Fehleisen ensemençait ses tubes de gélatine avec de petits fragments de peau enlevés sur le malade avec des ciseaux stérilisés; nous avons exposé plus haut les motifs qui font rejeter cette manière de procéder, et on peut aussi bien ensemencer les tubes avec le liquide obtenu par la piqûre. Le point le plus favorable est le bourrelet saillant placé du côté où envahit l'érysipèle; si l'on veut obtenir des cultures pures, il faut être rigoureusement antiseptique. Après avoir débouché un tube de gélatine ou d'agar-agar, en soufflant dans la pipette, on fait tomber à la surface de la substance une goutte ou deux du liquide recueilli. Avec un fil de platine stérilisé, on fait péné-

trer le liquide dans l'épaisseur de la gélatine, où il forme une strie rosée. Puis on place les tubes à l'étuve à 22° pour la gélatine, à 30° ou 35° pour l'agar-agar. Dans les tubes à gélatine, au bout de quarante-huit heures, le long des stries rouges, on voit apparaître des petits points ronds, d'un blanc mat, tranchant nettement sur la gélatine, du volume d'une tête d'épingle. Le troisième jour, ils ont doublé de volume et l'accroissement est d'autant plus notable que le grain est plus rapproché de la surface. Les jours suivants, ces apparences s'accentuent; près de la superficie, les petits points très rapprochés forment un léger nuage interrompu çà et là par les grains plus gros opaques. A partir du septième ou huitième jour, le développement se ralentit et, vers le quinzième jour, il s'arrête complètement.

Une fois arrêtées dans leur développement, les cultures ne meurent pas pour cela et, pendant plus d'un an, elles sont encore réinoculables (Denucé).

La température la plus favorable à la culture du streptococcus de l'érysipèle est 30° centigrades ; au-dessous de 20°, les colonies se développent avec d'autant plus de lenteur que la température est plus basse. Vers 10°, tout développement cesse ordinairement, mais on peut le voir reprendre si on replace les cultures à une température normale (25 à 30°).

On peut aussi, avec des tubes à gélatine, préparer par la méthode habituelle des cultures sur plaques; on le fait surtout dans le but de séparer le microbe de l'érysipèle des streptococcus pyogenes albus ou

aureus qui lui sont souvent associés. Au bout de quarante-huit heures, les colonies de l'érysipèle commencent à peine à se développer sous forme de petits points blancs. Les colonies qui apparaissent avant quarante-huit heures sont celles des bactéries pyogènes.

Dans les tubes inclinés, la culture apparaît de chaque côté de la strie d'inoculation, sous forme d'une zone de petits points blancs qui finissent par se joindre et former une bande à bords festonnés.

Sur l'agar-agar et le sérum gélatinisé, le développement est le même; comme pour la fièvre typhoïde, sur les pommes de terre, le développement du microbe ne se manifeste pas à l'œil nu, mais en examinant, au bout de cinq à six jours, la surface de coupe des tubercules, on y trouve le streptococcus en abondance.

Inoculations aux animaux. — Fehleisen, le premier, pratiqua des inoculations aux animaux avec des cultures pures du streptococcus de l'érysipèle; il fit l'inoculation sur des lapins et presque tous présentèrent des phénomènes érysipélateux typiques. L'inoculation se pratique chez le lapin au niveau de l'oreille, soit au moyen de piqûres avec des aiguilles trempées dans les cultures, soit par l'intermédiaire de scarifications à la surface desquelles on étale des parcelles de culture. Au bout de trente-six à quarante-huit heures, on voit la température de l'animal s'élever d'un degré à un degré et demi; autour du point d'inoculation apparait une rougeur qui s'étend

plus ou moins, suivant l'importance des piqûres et l'état de l'animal. Sur l'oreille, regardée par transparence, la plaque malade paraît colorée en rouge vif, le diamètre des vaisseaux semble élargi, les bords de la plaque érysipélateuse sont nets et un peu saillants. Au bout d'une dizaine de jours, la rougeur a en général disparu. Si on tue le lapin en pleine activité érysipélateuse et qu'on place la partie malade dans l'alcool, on y retrouve au microscope les mêmes lésions que dans les plaques érysipélateuses de l'homme. Les vaisseaux et les espaces lymphatiques sont remplis de micrococci.

Fehleisen a observé le fait suivant : sur un lapin, dès que la lésion érysipélateuse se fût développée, l'oreille fut amputée au thermo-cautère. La température retomba rapidement à la normale et l'animal se rétablit promptement.

L'inoculation des animaux (lapin, chien) peut se faire sur un point quelconque de la peau, en ayant soin de raser les poils pour pouvoir assister à l'évolution morbide.

Inoculations à l'homme. — Quelques auteurs ont tenté la démonstration directe du rôle pathogène du streptococcus erysipelatus; ils y ont réussi; mais, quel que soit l'intérêt scientifique qui puisse s'attacher à une semblable démonstration, on ne saurait trop flétrir un pareil procédé ; en effet, bien que le but avoué des auteurs qui l'ont mis en pratique soit un but curatif, il n'en reste pas moins avéré que sur les sept cas de Fehleisen, il s'est produit trois fois des

accidents graves, tels que collapsus ou épanchements pleurétiques et, dans le cas de Janicke et Neisser, la mort s'en est suivie : ces résultats n'ont pas besoin de commentaires et suffiront pour éloigner les expérimentateurs futurs de cette manière de procéder.

Rapports du microbe de l'érysipèle avec d'autres microbes. — Morphologiquement, le streptococcus de l'érysipèle ressemble à d'autres microcoques produisant des lésions différentes, et il y a lieu de se demander si le streptococcus est bien spécial à l'érysipèle.

Les organismes qui ont avec lui le plus de ressemblance sont le streptococcus décrit par Pasteur et Doléris dans la fièvre puerpérale, et le streptococcus pyogène. Nous ne parlerons pas de l'organisme décrit par Passet, qui semble être identique à celui de l'érysipèle.

En ce qui concerne l'infection puerpérale, il y a entre les deux microbes une véritable identité ; mais on le trouve ordinairement associé à d'autres bactéries, entre autres le streptococcus pyogène.

Le *streptococcus pyogenes* ne ressemble guère à la bactérie de l'érysipèle. Dans une même chaînette, les grains ont un volume variable, tandis que dans l'érysipèle la régularité des chaînettes est parfaite. D'autres différences existent dans les cultures. Nous renvoyons, pour les caractères spéciaux de ces cultures, au chapitre où nous étudions les microbes de la suppuration. Inoculé aux animaux, le streptococcus pyogène donne une suppuration en nappe,

ce qui n'arrive pas au streptococcus érysipélateux ; c'est là un important caractère distinctif.

Anatomie et physiologie pathologiques. — Les coupes de peau prises sur l'homme ou sur l'oreille du lapin, durcies à l'alcool absolu et colorées par les procédés indiqués plus haut, permettent d'apprécier très exactement la topographie des bactéries. Les coupes sont pratiquées perpendiculairement à la surface cutanée et colorées au violet de méthyle et de gentiane, ou à la fuchsine, suivant la méthode de Gram. Les bactéries sont plus abondantes au niveau du rebord saillant par où progresse la lésion : elles se font de plus en plus rares au fur et à mesure qu'on s'éloigne de ce point. Les microcoques, deux par deux ou en chaînettes, sont dispersés dans tout le derme et le pannicule adipeux sous-cutané. Dans le derme, les bactéries occupent les vaisseaux lymphatiques et les espaces interfasciculaires. Les streptococcus dans les espaces affectent une disposition sériée, parallèles les uns aux autres. Dans l'hypoderme, les chaînettes sont surtout dans les vaisseaux lymphatiques. On voit aussi de nombreuses chaînettes dans les follicules pileux.

Au niveau des plaques érysipélateuses, on ne trouve jamais de microcoques dans le sang ; il en est de même, d'après Denucé, dans la circulation générale. Cependant, ce dernier auteur, dans des lésions d'organes atteints secondairement de l'érysipèle, a trouvé les chaînettes caractéristiques. Le professeur Jaccoud cite, dans le dernier volume de ses Cliniques

de la Pitié, un cas d'érysipèle où le sang inoculé dans des tubes de gélatine et d'agar-agar a donné lieu à des cultures où l'on a pu reconnaître la présence du streptococcus de l'érysipèle. La recherche des bactéries érysipélateuses peut être faite dans l'urine; mais elle demande beaucoup de soins et de minutieuses précautions pour recueillir l'urine; il est bon de ne recueillir le liquide qu'à la fin de la miction. Il faudra s'assurer, d'autre part, que l'urine est *fraîche et acide;* car rien ne ressemble au streptococcus comme la *torula* des urines ammoniacales. On laisse reposer l'urine un quart d'heure, on la décante, et avec le dépôt on fait des lamelles qu'on colore au violet de méthyle et qu'on monte dans le baume. Dès qu'il y a de l'albumine dans les urines d'un érysipélateux, et surtout des éléments figurés (cylindres, cellules épithéliales), on est à peu près sûr de trouver des bactéries.

Lorsqu'un individu qui a présenté cette complication rénale succombe, on peut colorer les bactéries dans le rein; la technique de cette coloration est très simple. On fait durcir les pièces dans l'alcool absolu seul, on colore par le violet de méthyle 6 B, on décolore par la solution de Gram et on donne une seconde coloration par la safranine ou la coccinine à 2 p. 100; les bactéries sont bleues et les tissus rouges.

La description détaillée des lésions anatomiques de l'érysipèle nous entraînerait hors du cadre de notre sujet; nous nous bornerons, en fait d'anatomie pathologique, aux quelques faits énoncés ci-dessus,

concernant spécialement la distribution des bactéries, renvoyant pour le reste à la thèse de notre collègue Denucé où ces lésions sont très complètement et très scientifiquement exposées.

Lorsque l'érysipèle a été simple, le streptococcus erysipelatus est toujours la seule bactérie observée; mais, dès qu'il y a une complication quelconque, et principalement une suppuration, on trouve des microbes étrangers et, dans l'espèce, le streptococcus et le staphylococcus pyogenes.

Prophylaxie. — Grâce aux bienfaisants progrès de l'hygiène et de la méthode antiseptique, l'érysipèle chirurgical, complication autrefois fréquente des plaies, a disparu presque complètement des salles d'hôpital, et les services de chirurgie sont rares où on l'observe encore. L'isolement, l'antisepsie rigoureuse et la désinfection seront donc les mesures de rigueur à prendre, surtout lorsque dans le voisinage du malade se trouveront des blessés ou des femmes en couches.

Une première attaque d'érysipèle ne confère aucune immunité, au sens absolu du mot, mais il paraît démontré que, chez un individu sujet aux érysipèles répétés, les dernières attaques sont toujours atténuées par rapport à celles qui les ont précédées (Jaccoud).

CHAPITRE IX

LA PNEUMONIE AIGUË. — LE PNEUMOCOCCUS

Historique. — Si, depuis longtemps, la pneumonie était considérée comme de nature infectieuse, la connaissance de sa nature parasitaire est de date toute récente. Le premier, Billroth, en 1873, constata la présence de micro-organismes dans les crachats des pneumoniques, mais il ne retira pas de l'existence de ces microbes une notion étiologique. En 1876, Klebs décrit, comme spécifique de la pneumonie, des microcoques arrondis disposés en chapelets et de petits bâtonnets qu'il considère comme des *monadines*. — Il fit avec ces microbes des cultures sur la gélatine et des inoculations aux animaux. Eberth paraît être le premier auteur qui ait vu le véritable microbe de la pneumonie ; il le décrit comme un diplocoque trouvé sur la pie-mère et le poumon d'un malade mort de pneumonie avec méningite.

Koch indiqua leur forme ovoïde.

En 1881 et 1882, parurent les travaux de Friedlander; cet auteur décrivait au parasite pneumonique une forme ovoïde et une disposition en diplo-

coques; il l'inocule aux animaux avec des résultats variables.

Gunther décrit une capsule au diplocoque, et Friedlander, l'ayant constatée après lui, regarda ce détail comme spécial à la maladie et caractéristique de la pneumonie.

En 1883, Talamon publie le résultat de ses recherches : pour lui, c'est la forme du coccus et non la capsule qui est caractéristique.

La même année, Afanassiew et Cornil étudient les micro-organismes de la pneumonie et considèrent également la capsule des microcoques comme sans importance.

En 1884, Fraënkel montre que la capsule n'est pas caractéristique du pneumococcus, et que, dans la salive, on rencontre des formes bactériennes également encapsulées, et, plus tard, il arrive à constater l'identité du microbe de la salive et de celui de la pneumonie. Mais ce microbe diffère de celui de Friedlander par sa forme et le caractère de ses cultures. Il pense que son microbe est le même que celui de Talamon et identique à celui décrit par Pasteur dans la salive d'un enragé.

Sternberg, qui arriva au même résultat, le nomme, à cause de cela, *Micrococcus Pastorianus*.

Récemment, Weichselbaum décrit, dans la pneumonie, quatre organismes, parmi lesquels un diplocoque ovoïde, dont la description se rapporte au microbe de Talamon.

Morphologie du pneumococcus. — Le microbe

décrit par Talamon et Fraënkel se présente sous la forme ovoïde ou lancéolée en *grain de blé.* Il a de 1 μ à 4 μ de longueur sur 0,5 μ de large à sa partie moyenne. Ces coccus ovoïdes sont tantôt entourés de capsules (fig. 138), tantôt sans capsules. On les voit, soit isolés, soit réunis deux à deux, soit en chaînettes de quatre. Les bactéries sont libres dans l'exsudat pneumonique ou incluses dans les cellules lymphatiques.



FIG. 138. — Bactérie spécifique de la pneumonie. Pneumococcus encapsulé, d'après Friedlander.

La capsule des bactéries de la pneumonie, considérée par Friedlander comme caractéristique, n'a pas été retrouvée avec la même constance par tous les histologistes.

Si le pneumococcus paraît être l'organisme spécifique de la pneumonie, il ne se rencontre presque jamais seul dans les exsudats pneumoniques ; la plupart du temps, il est accompagné d'autres espèces, et Afanassiew et Cornil ont démontré la présence d'autres micrococcus arrondis à côté du coccus ovoïde de la pneumonie.

Dans une de nos préparations (fig. 140), nous avons rencontré le *micrococcus tetragenus* en assez grande

abondance; c'était un cas de pneumonie franche



FIG. 139. — Bactérie pneumonique, d'après Cornil.

aiguë qui guérit après avoir évolué classiquement en dix jours.



FIG. 140. — Diverses variétés de microbes observés dans un crachat pneumonique.

Coloration du pneumococcus. — Pour les préparations sur les lamelles, on peut employer les méthodes suivantes :

(*a*) Colorer par la méthode de Gram et colorer en deuxième fois par l'éosine.

(*b*) *Procédé de Ribbert.* — On prépare la solution suivante :

Eau	100
Alcool	50
Acide acétique.	2

On chauffe et on ajoute :

Dahlia jusqu'à saturation.

La coloration est instantanée; aussi, pour qu'elle soit convenablement faite, faut-il user du procédé suivant. Après avoir étalé la substance sur un couvre-objet, et l'avoir desséchée par les procédés ordinaires, saisissant la préparation avec une pince, on ne fait que la tremper dans le bain colorant, pour la laver ensuite immédiatement dans l'eau; on sèche et on monte au baume, sans passer dans l'alcool; les capsules ont une légère teinte bleue, tandis que les coccus sont bleu foncé.

(*c*) *Procédé de Friedlander.* — On étale la substance sur le couvre-objet, on sèche et on passe trois fois à la flamme ; on trempe pendant une ou deux minutes dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100; on sèche au courant d'air sans laver, puis on met la préparation pendant quelques secondes dans une solution de violet de gentiane à l'eau d'aniline et on lave à l'eau distillée. On sèche et on monte au baume. Les capsules sont bleu violet et les bactéries violet foncé.

(*d*) *Procédé de Thost* (double coloration). — On place les couvre-objets dans la solution de Ziehl :

Eau distillée.	100
Fuschine	1
Acide phénique	5

additionnée de quelques gouttes d'acide acétique, et on chauffe pendant dix minutes. On lave et on colore en double avec une solution de bleu de méthylène à 1 p. 100 dans l'eau distillée; on sèche et on monte au baume. Les bactéries sont colorées en rouge vif, les capsules sont bleues.

La recherche du pneumococcus dans les coupes est un peu plus difficile, et on réussit généralement moins bien à colorer des bactéries avec leurs capsules dans les organes que sur les crachats ou exsudats pneumoniques. Les procédés suivants sont les plus usités, surtout celui de Friedlander :

(*a*) *Méthode de Gram.*

(*b*) *Méthode de Friedlander.* — On prépare la solution suivante :

Fuchsine	1
Eau distillée	100
Alcool.	5
Acide acétique glacial . .	2

On laisse les coupes vingt-quatre heures dans ce mélange colorant, on rince dans l'alcool et on les place pendant deux minutes dans une solution d'acide acétique à 2 p. 100; on déshydrate ensuite par l'alcool, l'essence de girofle et on monte dans le baume.

(c) *Formule de Cornil.* — Mettre les coupes pendant vingt-quatre heures dans la matière colorante suivante :

Eau distillée	100
Solution alcoolique de violet de gentiane .	50
Acide acétique.	10

On décolore ensuite en mettant les coupes pendant quelques minutes dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100 ; on déshydrate par l'alcool, l'essence de girofle et on monte dans le baume.

La difficulté de la préparation du pneumococcus dans les coupes consiste surtout dans la décoloration qu'on fait trop intense ou insuffisante ; cette opération ne pourra donc se faire convenablement qu'avec une certaine habitude.

Recherches cliniques. — La recherche clinique du pneumococcus se fait facilement par la coloration, au moyen des procédés cités plus haut, des produits de l'exsudation et de l'expectoration caractéristique de la pneumonie ; si l'on ne veut pas que les produits soient mélangés à la salive, où l'on pourrait rencontrer des bactéries semblables à celles de la pneumonie, on pourra, au moyen de la seringue de Pravaz, si la pneumonie est superficielle, soit avec un trocart capillaire, retirer par la ponction un peu de l'exsudat pneumonique ; cette opération est tout à fait inoffensive, si l'on a soin de la pratiquer avec toutes les précautions antiseptiques désirables.

La recherche dans le sang reste habituellement in-

fructueuse ; cependant Talamon, dans un cas, l'a rencontré dans le liquide sanguin d'un malade au moment de l'agonie.

Recherches sur le cadavre. — Après la mort, la recherche des bactéries de la pneumonie se fait dans le liquide obtenu par le raclage de la surface de section du poumon, dans les parties hépatisées ou dans l'exsudat pleural. On peut les étudier à l'état frais, dans une solution très faible de violet de méthyle (p. 193), en ayant soin de ne pas dessécher complètement la lamelle ; on les étudiera surtout par les colorations et la culture.

Pour les coupes, on peut les faire immédiatement par congélation, ou mettre dans l'alcool des fragments qu'on coupera plus tard ; lorsque le poumon a été durci par l'alcool, les bactéries sont un peu ratatinées et elles paraissent un peu plus petites que celles observées dans les crachats. Lorsque la pneumonie s'est compliquée d'autres maladies, telle que la méningite, on peut chercher avec succès les micro-organismes spécifiques dans les liquides d'exsudation de ces infections secondaires.

Culture du pneumococcus. — On peut facilement, par le procédé de la chambre humide, assister à l'évolution complète des bactéries de la pneumonie. Pour être sûr d'avoir une culture pure, on flambe d'avance la petite chambre humide, on y place une goutte de bouillon stérilisé, qu'on ensemence avec une parcelle de culture sur plaque de gélatine. Il est

utile de préparer plusieurs chambres humides par ce procédé, car on ne réussit pas toujours à obtenir, du premier coup, une culture pure.

Le développement commence dès les premiers jours ; au bout d'une quinzaine de jours, on voit dans la préparation, des filaments de bactéries lancéolées douées de faibles mouvements.

Nous avons vu plus haut que les exsudats pneumoniques contiennent habituellement plusieurs sortes de bactéries ; aussi est-il nécessaire, pour en faire des cultures pures, de procéder à l'opération du triage des germes au moyen des cultures sur plaques. Pour l'ensemencement, on liquéfie un tube de gélatine qu'on inocule, soit avec un fil de platine qui a touché la plèvre enflammée ou la surface de coupe du poumon, soit avec la parcelle d'exsudat extraite par une ponction ; on procède ensuite à des dilutions successives par la méthode ordinaire, et on prépare avec ces tubes des plaques qu'on met à la chambre humide. Au bout de douze jours, les colonies se développent sous forme de gouttes et de globules saillants ; le développement se fait plus vite à la surface que dans la profondeur. On peut ensuite, au moyen de ces plaques, obtenir des cultures pures ; pour cela, on peut, par piqûre, ensemencer des tubes à gélatine. Dans ce cas, la culture se développe en forme de clou (planche V), c'est-à-dire avec une ligne correspondant au sillon de l'aiguille et une tête ronde à la surface ; il n'y a pas de liquéfaction de la gélatine.

Le pneumococcus se cultive le mieux à une température de 30 à 35° C. à l'étuve, mais on ne peut alors

employer la gélatine à l'état solide ; on peut employer la gélatine additionnée d'agar-agar, les pommes de terre, le bouillon de poulet, de lapin, soit l'agar-agar seul et le sérum gélatinisé. Dans ces cultures à l'étuve, le développement complet se fait au bout de quelques jours.

L'étude du microbe de la pneumonie, faite dans les cultures, montre que cet organisme se rapproche plus, au point de vue spécifique, du genre *bactérium* que des micrococcus.

Les ensemencements des cultures devront être faits surtout avec les exsudats inflammatoires des différents organes, car, avec le sang, on n'obtient presque jamais de résultats positifs.

Brieger a cultivé le microbe de la pneumonie sur une solution sucrée, et il a vu se développer, au bout de trois jours, une fermentation avec beaucoup d'acide carbonique et d'acide acétique. Le parasite cultivé avec du sucre semble avoir épuisé, par la fermentation, ses propriétés pathogènes, car il ne tue plus les animaux. Mais si on l'inocule de nouveau sur la gélatine, il reprend son activité première, et, injecté à des animaux, il reproduit la maladie ; il y a lieu de se demander si les cultures de Brieger étaient réellement des cultures pures.

Inoculations aux animaux. — Les expériences d'inoculation réussissent chez le lapin, la souris et le cobaye.

Si l'on procède chez le lapin par inoculation sous-cutanée, par exemple à la peau de la cuisse, il ne se

manifeste en général aucun trouble, soit local, soit pulmonaire, soit général, avec une culture pure.

On réussit le plus souvent en injectant la matière d'inoculation directement dans le poumon, et on obtient alors le développement de pneumonies fibrineuses, ordinairement accompagnées de péricardite et de pleurésies séro-fibrineuses généralisées. Les cultures faites avec les lésions des animaux reproduisent le microbe lancéolé.

On peut arriver chez les souris à reproduire la pneumonie, en pulvérisant dans la cage où sont les animaux, des cultures ou des exsudats dilués dans l'eau.

L'injection chez le lapin peut aussi être faite, par la veine de l'oreille, directement dans le sang; dans ce cas, on provoque des lésions variées (péritonite, pleurésie) dont les exsudats renferment une grande quantité de micro-organismes.

Chez les chiens en général, on ne peut amener la mort; ils ont de la fièvre, du souffle tubaire, mais au bout de deux ou trois jours ils sont remis et complètement guéris. Si on les sacrifie au second jour, on constate une hépatisation manifeste.

Ajoutons que toutes les tentatives pour reproduire la pneumonie avec des agents irritants vulgaires ne contenant pas le pneumococcus ont jusqu'ici échoué.

Mécanisme de l'infection spontanée. — Il est hors de doute qu'on voit souvent la pneumonie aiguë survenir par épidémies, mais les auteurs ne sont pas

d'accord pour savoir si la contagion peut se faire directement; les expériences sur les animaux faites avec des pulvérisations de cultures de pneumococcus sont de nature à élucider cette question. D'autre part, dans l'épidémie qui sévit l'année dernière (1886) à Paris, le nombre très élevé d'élèves des hôpitaux et d'étudiants en médecine qui furent frappés incline à faire penser à la possibilité de la transmission directe de la maladie, probablement par les poussières en suspension dans les salles où sont placés les malades.

L'unité de la pneumonie est aujourd'hui admise par la majorité des médecins; nous entendons, bien entendu, parler de la pneumonie primitive.

En effet, les pneumonies secondaires qui surviennent au cours d'autres maladies générales (fièvre typhoïde, variole, érysipèle, rougeole) ne sont pas des pneumonies fibrineuses et sont toutes des broncho-pneumonies. Ces inflammations secondaires de l'organe respiratoire sont probablement chacune sous la dépendance du micro-organisme qui a causé la maladie primitive. Aussi nous ne les étudierons pas ici, mais avec chacune de ces maladies, car, en agissant autrement, on pourrait amener une confusion regrettable, et porter un préjudice sérieux à la clarté et à la facile compréhension de notre sujet.

Pathogénie des lésions. — Ce qui caractérise les lésions causées par le pneumococcus, c'est l'exsudation de la fibrine, sous forme de réseau fibrillaire : fibrine dans les alvéoles pulmonaires et dans les

bronches, fibrine dans la plèvre et dans les séreuses en général. Cette fibrine englobe des globules rouges et blancs et des cellules épithéliales desquamées, qu'on trouve côte à côte avec les bactéries caractéristiques.

Par quel mécanisme se fait l'*hépatisation grise?*

Il est permis de penser que cette évolution anatomique se fait dans les conditions suivantes :

Nous avons vu que l'exsudat pneumonique renfermait d'autres micrococcus ; ces derniers ne diffèrent en rien des microbes de la suppuration ; il est probable que ces bactéries, trouvant chez certains individus prédisposés, soit par le surmenage, soit par l'alcoolisme ou un mauvais état général, un terrain favorable, se développent et provoquent la suppuration du poumon en masse. Au contraire, chez les hommes jeunes, indemnes des tares citées plus haut, l'organisme est résistant, peu favorable à l'existence de ces micro-organismes, la pneumonie reste à l'hépatisation rouge et guérit. Ce n'est là qu'une hypothèse, mais elle est au moins plausible.

CHAPITRE X

LA FIÈVRE TYPHOÏDE. — LE BACILLE TYPHIQUE

Historique. — Les conceptions anciennes sur l'étiologie de la fièvre typhoïde étaient empreintes de la même obscurité qui planait sur l'origine des maladies infectieuses en général, et il faut arriver à Budd, en 1856, pour voir formuler nettement l'idée d'un germe contagieux spécifique. Sans avoir connu la véritable nature du poison typhique, il avait établi que la fièvre typhoïde se transmet par contagion, que cette maladie ne provient pas, comme le croyaient d'autres observateurs, de la décomposition putride de substances vulgaires, mais que, pour faire de la fièvre typhoïde, il fallait de la fièvre typhoïde.

En 1864, Tigri, professeur d'anatomie à Sienne, communiqua à l'Académie des sciences le cas d'un homme, mort de fièvre typhoïde, et chez lequel il trouva de nombreuses bactéries dans les veines pulmonaires et dans les cavités gauches du cœur.

En 1866, Coze et Feltz décrivent dans le sang des typhiques des bâtonnets de 2 à 5 μ de longueur qu'ils rapprochent du *Bacterium catenula* de Dujardin.

Ces bâtonnets mobiles, injectés à des animaux, amenaient leur mort rapide avec présence des mêmes bâtonnets dans leur sang. Hallier décrivait dans le sang des typhiques deux micrococcus, l'un à grosses cellules, appartenant au genre *Rhizopus nigricans;* l'autre à petites cellules beaucoup plus abondantes du genre *penicillium crustaceum*.

En 1871, von Recklinghausen découvre des colonies microbiennes dans les abcès miliaires des reins des typhiques; il ne les considère pas comme la cause de la maladie.

En 1872, Eberth constate la présence de bactéries dans les organes viscéraux des typhiques, mais il ne leur attache pas encore d'importance pathogénique.

En 1875, Klein publia un travail qui eut en Angleterre un grand retentissement : le microbe de Klein est un micrococcus isolé, ou en amas, qu'il a observé dans les selles, dans les parois intestinales et dans les ganglions mésentériques. Des recherches ultérieures ont montré que Klein avait attribué la spécificité à des micrococcus dont on voit banalement pulluler plusieurs variétés dans la continuité du tube digestif.

En 1875, Browicz trouva dans l'intestin et d'autres viscères des typhiques des bactéries en forme de bâtonnets immobiles.

En 1876, Sokoloff trouva dans la rate et l'intestin de typhiques des colonies de microcoques, et pensa qu'il existait entre eux et la fièvre typhoïde une relation de cause à effet ; mais ce n'étaient encore là que des microbes de la putréfaction.

C'est en 1880 que parut dans les *Archives* de Virchow le premier mémoire d'Eberth sur le bacille typhique, qui devait désormais porter son nom. Ce mémoire fut suivi de deux autres, l'un en 1881 dans les *Archives* de Virchow, l'autre en 1883 dans le *Recueil* de Volkman.

Le bacille découvert par Eberth a de grandes ressemblances morphologiques avec certaines bactéries de la putréfaction; il a la forme d'un ovoïde allongé ou plutôt d'un fuseau arrondi à ses deux extrémités; il contient dans son intérieur de petits corps, semblables à des spores, au nombre de 1 à 3 dans chaque bacille. Tandis que les bactéries de la putréfaction se laissent imprégner avec une grande facilité par les couleurs d'aniline, au contraire le bacille typhique a peu d'affinité pour ces matières colorantes, et ce signe a pour l'auteur une valeur caractéristique.

Les travaux de Klebs, sur lesquels nous sommes forcément très brefs, furent le point de départ de nouvelles recherches et ramenèrent l'attention sur ce point de bactériologie.

En 1881, Klebs observa, en certains points des tuniques intestinales, des filaments longs, souvent articulés; ce serait, d'après lui, des formes filamenteuses du bacille d'Eberth.

Koch, la même année (1881), considéra les bacilles de Klebs comme étrangers à la maladie et sans importance pathogénique; il retrouva au contraire le bacille d'Eberth qu'il considéra comme le véritable bacille typhique.

Mayer, élève de Friedlander, trouva 16 fois sur 20 le bacille d'Eberth.

En 1882, Coast, et Crooke en Angleterre, décrivirent le même bacille chez les typhiques.

En 1881, M. Bouchard avait trouvé des bacilles dans l'urine des typhiques, mais il n'en a pas donné la description.

En 1884, parut le mémoire de Gaffky, assistant de Koch, qui, mettant à profit la découverte récente des procédés de culture sur milieux solides, décrivit le premier la forme spéciale des cultures du bacille typhique sur la gélatine et les pommes de terre, et il attribua au micro-organisme les caractères suivants : *ce bacille est doué d'un mouvement propre, il se colore mal par les couleurs d'aniline, il ne liquéfie pas la gélatine et forme des spores terminales.*

En 1885, Artaud, interne des hôpitaux, entreprit des recherches sur le bacille typhique, dont il consigna les résultats dans sa thèse inaugurale.

Il insista particulièrement sur une forme spéciale très fréquente du bacille typhique, la forme dite en navette, qu'il considéra comme caractéristique.

Le plus récent travail sur le bacille typhique est celui de MM. Chantemesse et Widal, paru en 1887. Ce mémoire, très complet, a fait faire un pas considérable à la question du bacille typhique en France, et, dans la suite de cette monographie, nous lui ferons de fréquents emprunts.

Les auteurs, outre qu'ils ont fixé les caractères des cultures, ont fait de nombreuses inoculations aux animaux et ont pu constater la présence du bacille

typhique dans les eaux potables, découvrant ainsi un des points les plus curieux de l'étiologie de la fièvre typhoïde.

Morphologie du bacille typhique. — Tout le monde paraît d'accord aujourd'hui pour considérer l'organisme spécifique de la fièvre typhoïde comme un bacille et non comme un micrococcus, forme qui lui avait été assignée par les premiers investigateurs. Cependant les auteurs ne sont pas d'accord sur les détails plus fins de sa morphologie : Artaud lui assigne une forme en navette avec un espace clair au centre ; Gaffky, au contraire, en fait un bâtonnet cylindrique sans espace clair. D'après Chantemesse, ces opinions divergentes tiendraient à ce que ces différents observateurs décrivent le même micro-organisme à différentes phases de son évolution.



FIG. 141. — Bacille typhique. — Ses aspects différents dans une culture sur gélatine-peptone inclinée.

La forme décrite par Gaffky est la plus fréquente, c'est-à-dire que le bacille typhique est un petit bâtonnet arrondi à ses deux extrémités, d'une longueur de 2 à 6 μ et d'une largeur de 1 à 2 μ ; il est

environ trois fois plus long que large. Examiné à l'état frais, le bacille typhique est très mobile, et présente une sorte de mouvement oscillatoire sur lui-même (fig. 141).

Disons quelques mots de la forme en *navette* (fig. 142). D'après Artaud, cette forme serait caractéristique du bacille typhique ; mais on peut objecter à cette manière de voir que l'espace clair ne se présente pas toujours au centre du bacille, mais souvent à une de ses extrémités.

Ces formes de bacilles à espace clair ne sont pas spéciales à la fièvre typhoïde, et l'on rencontre souvent dans les infusions végétales ou dans l'eau crou-

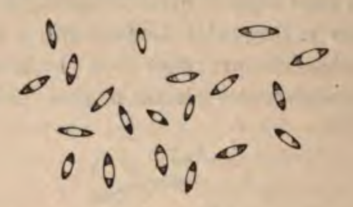


FIG. 142. — Bacille typhique, d'après Artaud (bacille en navette).

pie des mares de la campagne des formes analogues. De nombreuses théories ont été édifiées pour expliquer cet espace clair, les uns voulant y voir une sporulation placée au centre, les autres, une sporulation placée aux extrémités.

Pour Chantemesse, cet espace clair est une dégénérescence, une sorte de cadavérisation qui précéderait la multiplication par scissiparité.

Cette dernière opinion, comme les précédentes, ne nous paraît pas devoir se soutenir, car cette partie claire du bacille typhique est la plus large du petit organisme, et il est d'observation vulgaire que, lorsqu'une bactérie va subir la scissiparité, elle se rétrécit au contraire au point où va se faire la scission. Nous ne pensons pas davantage que ce soit là une sporulation.

Si le lecteur se reporte au chapitre où nous avons traité du bacille de la tuberculose, il verra que des discussions analogues se sont élevées à propos des espaces clairs qu'on observe dans ce bacille et l'explication que nous donnons de cette apparence peut aussi bien s'appliquer au bacille typhique. Observons d'abord que cet espace clair n'est pas signalé dans les bacilles observés à l'état frais, seuls les bacilles colorés le présentent. Pour nous, la formation de l'espace clair est un artifice de préparation dû au chauffage et à la dessiccation. Le protoplasma du bacille se rétracte sous l'influence de ces agents physiques, tandis que son enveloppe garde à peu près sa forme primitive. Disons que d'après Chantemesse, on peut faire naître à volonté l'espace clair, en additionnant les cultures à la gélatine de quelques gouttes de solution phéniquée au 1/20.

Coloration du bacille typhique. — La méthode de Gram ne peut servir pour le bacille typhique, qui se décolore complètement par ce procédé.

D'ailleurs, en général, le bacille typhique prend mal les couleurs d'aniline.

Procédé d'Artaud. — Etaler entre deux lamelles un petit fragment de pulpe de rate ou de ganglion, de la même manière qu'on dispose un crachat pour la recherche du bacille tuberculeux; on sèche les lamelles légèrement au-dessus de la flamme d'une lampe à alcool, puis on les immerge pendant dix minutes dans la solution de bleu de méthylène que l'on a portée au préalable à l'ébullition dans un tube à essai. Puis les lamelles retirées du bain colorant sont lavées à l'eau distillée, séchées entre deux feuilles de papier à filtre, éclaircies par l'essence de girofle et montées dans le baume.

Procédé de Chantemesse et Widal. — On se sert de violet 6 B ou de fuchsine rubine en solution alcoolique additionnée de deux tiers d'eau. Laisser une minute dans le bain colorant, laver à l'eau, dessécher au courant d'air et monter dans le baume.

La coloration dans les coupes est beaucoup plus difficile, surtout si les pièces ont séjourné dans l'alcool; aussi Artaud recommande-t-il, à juste titre, de faire les coupes par congélation sur des tissus aussi frais que possible.

Procédé de Gaffky. — Laisser séjourner les coupes pendant vingt-quatre heures dans une solution alcoolique saturée de bleu de méthylène, additionnée d'eau distillée. Après lavage à l'eau, les coupes sont déshydratées par l'alcool, éclaircies par l'essence de térébenthine et montées au baume.

La méthode de Gram, qui décolore le bacille ty-

phique, peut servir à montrer sur les coupes la coincidence d'autres bacilles.

Procédé de Ziehl. — Faire le liquide suivant :

Eau distillée	100
Fuchsine	1
Acide phénique	5

Laisser les coupes tremper une demi-heure, laver rapidement dans l'eau acidulée à 1 p. 100 d'acide acétique, décolorer et déshydrater par l'alcool, éclaircir à l'essence et monter au baume.

Ce dernier procédé est recommandé par Chantemesse.

Lorsque les tissus ont séjourné dans l'alcool, la coloration du bacille typhique est très difficile et Gaffky s'est trompé en affirmant le contraire ; les bactéries qu'il a colorées étaient probablement des organismes de la putréfaction ; leur réunion en amas qu'il invoquait comme caractéristique de la fièvre typhoïde est purement illusoire, et Artaud a démontré que les bactéries de la putréfaction ne sont pas seulement infiltrées dans les tissus, mais peuvent y former également des amas en foyer. Il est donc recommandé de couper des organes frais et, s'ils ont été dans l'alcool, de ne pas employer le procédé de Gaffky.

Recherches histologiques sur le cadavre. — Nous avons vu que l'essai sur l'organe frais non imprégné d'alcool était la méthode la meilleure, voici comment

on la met en œuvre; on commence par laver l'organe (rate, ganglion, etc.) dans une solution de sublimé au $\frac{1}{1000}$, puis, avec un couteau stérilisé, on pratique une coupe de l'organe; au milieu de la surface de coupe on en pratique une seconde perpendiculaire; on arrive ainsi en plein parenchyme. On racle alors légèrement la surface de coupe avec un petit scalpel stérilisé et l'on étale le suc ainsi obtenu sur une lamelle où on lui fait subir la préparation voulue. On prend aussitôt une mince tranche de l'organe pour la congeler immédiatement et en faire des coupes.

Il n'est nullement nécessaire de recueillir les organes aussitôt après la mort, car le bacille typhique continue à pulluler sur le cadavre pendant quelque



FIG. 143. — Colonies de bacilles typhiques sur une coupe de rate.

temps. Il y a même avantage à placer quelques heures l'organe à l'étuve pour trouver un grand nombre de bacilles. Fraënkel et Simmonds exposent les organes, préalablement lavés dans une solution de sublimé, dans une chambre chauffée au moins pendant vingt-quatre heures.

Ajoutons, que la recherche faite sur des cadavres d'individus morts pendant la convalescence, reste ordinairement négative.

On trouve, presque constamment, le bacille typhique dans la rate et dans les plaques de Peyer ainsi que dans les ganglions mésentériques, mais sa présence n'est pas aussi constante dans les autres organes, surtout dans le sang, où on ne l'a pas encore trouvé jusqu'ici.

Recherches histologiques sur le vivant. — Jusqu'ici, les recherches dans le sang, sont, de même que sur le cadavre, demeurées infructueuses, quoiqu'il faille bien admettre que, s'il existe un bacille typhique, il a été à un moment donné dans le torrent sanguin.

On peut le retirer de la rate sur le vivant; il suffit, pour cela, de faire une ponction capillaire dans l'organe. Cette ponction doit être faite avec la plus rigoureuse antisepsie, et, dans ces conditions, elle est inoffensive. On lave très soigneusement la peau avec le savon noir et une brosse, on passe au sublimé, alcool et éther et on enfonce l'aiguille capillaire qui a été soigneusement flambée. L'examen en est fait par la méthode habituelle, mais il vaut mieux avoir recours aux cultures, ainsi que nous le dirons plus loin. Cet examen ne donne de résultats positifs que pendant la période d'état de la maladie; une fois que le malade entre en convalescence on ne trouve plus le micro-organisme dans la rate.

La recherche histologique du bacille typhique ne

peut être faite d'une manière profitable dans les matières fécales. En effet, nous avons vu que la morphologie de ce bacille était insuffisante pour sa détermination spécifique et, sur une préparation, il serait difficile de le reconnaître au milieu des milliers de bactéries étrangères à lui, qui peuplent les matières fécales.

Il est nécessaire d'avoir recours aux cultures.

Dans les urines, la présence du bacille typhique est corrélative de l'existence de l'albuminurie. M. Bouchard, le premier, a montré la coexistence des microbes et de l'albumine dans les urines des typhiques et il a conclu que les néphrites, qui apparaissent dans le cours de la fièvre typhoïde, sont infectieuses et d'origine bactérienne; on ne trouve donc le bacille typhique dans l'urine, que s'il y a une détermination rénale.

Culture du bacille typhique. — Les bactéries de la fièvre typhoïde se cultivent facilement, et on peut utiliser pour la culture les différents milieux dont nous avons donné la description. La culture sur la pomme de terre est la plus caractéristique et celle qui fournit l'élément le plus certain pour le diagnostic.

Le bacille typhique se multiplie sur la pomme de terre sans qu'il y ait apparence de culture à l'œil nu; cependant, on peut quelquefois distinguer des points de la pomme de terre où la surface paraît comme glacée. On sait qu'il n'y a presque pas d'autres bactéries qui prennent cet aspect dans les cultures sur

pommes de terre; l'organisme de l'érysipèle a les mêmes caractères de culture, mais c'est un microcoque en chaînette qui sera facile à distinguer.

Dans le bouillon de bœuf, le bacille typhique se développe lentement à la température ambiante; il trouble au contraire très vite le bouillon placé à l'étuve à 30°. Abandonné quelque temps à cette température, le bouillon se précipite, mais au bout de plusieurs semaines le liquide s'éclaircit et prend une couleur rouge foncée.

Le bacille typhique ne liquéfie pas la gélatine, qu'il soit inoculé en profondeur ou en strie sur une surface inclinée.

Dans un tube à gélatine inoculé par piqûre, on voit apparaître, dans la profondeur, de petites colonies jaunâtres de forme lenticulaire, et, à la surface, un disque mince, pelliculaire, à bords irisés, s'étendant vers la paroi du verre; tantôt, au contraire, une culture épaisse, opaque, très peu étendue, dont la dimension ne dépasse pas celle d'une petite lentille.

Dans les inoculations en strie sur un tube de gélatine inclinée, la culture commence à se montrer au bout de deux jours et s'arrête vers le neuvième jour; elle se présente sous forme d'un voile mince, translucide, à reflets nacrés et bleuâtres, à bords irréguliers (planche V). Les cultures se détachent de la gélatine avec une grande facilité, mais le point où avait grandi une colonie est devenu réfractaire à une nouvelle inoculation du bacille typhique.

Sur le sérum gélatinisé et sur l'agar-agar, le déve-

loppement du bacille typhique se fait facilement, mais les cultures n'offrent rien de caractéristique dans leur forme.

Dans l'agar-agar à la glycérine de Nocard et Roux, le bacille typhique se développe très rapidement. On peut aussi faire des cultures de ce micro-organisme dans l'urine stérilisée ; mais le développement se fait, en général mieux, quelle que soit la nature du sol de culture, dans un milieu légèrement alcalin.

Le bacille typhique peut se cultiver également dans le vide.

Les cultures sur plaques de gélatine préparées par

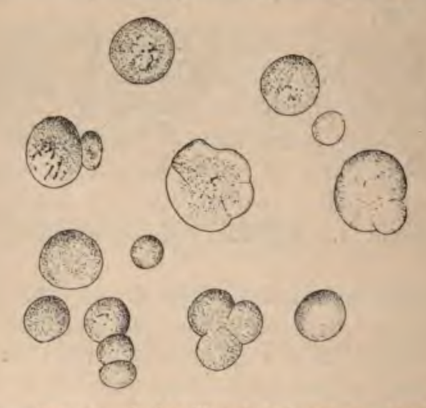


FIG. 144. — Colonies de bacilles typhiques au début de leur développement sur des plaques de gélatine peptonisée (d'après Chantemesse et Widal).

la méthode des dilutions, ou ensemencées directement par stries longitudinales, sont la meilleure

méthode pour isoler le bacille typhique et en obtenir des cultures pures.

Les colonies (fig. 144) apparaissent, au bout de deux ou trois jours, larges comme une tête d'épingle, minces, pelliculaires, nacrées, transparentes; au bout de cinq à six jours, leur dimension est celle d'une lentille, leur contour est irrégulièrement découpé, leur centre est devenu granuleux. A un faible grossissement (fig. 145), elles semblent parcourues par des sillons plus ou moins régulièrement disposés; sou-



FIG. 145. — Colonie du bacille typhique sur plaque de gélatine peptonisée au quatrième jour (d'après Chantemesse et Widal).

vent, l'aspect est celui des circonvolutions de l'intestin grêle enroulées sur elles-mêmes. Quant à la valeur diagnostique de ces colonies, nous nous contenterons de citer intégralement quelques phrases du mémoire de Chantemesse, qui nous dispenseront de commentaires.

« Cette forme, dit-il, est loin d'être constante et l'on ne saurait trop répéter que la culture du bacille

typhique sur gélatine est essentiellement polymorphe. Souvent, en effet, les colonies, sur plaques restent petites, nettement circulaires, régulières à leur surface comme dans leur contour. Dès lors, elles n'ont plus aucun caractère distinctif avec nombre de germes qui pullulent dans tous les milieux organiques.

« La difficulté de la recherche des colonies sur plaques tient donc à leur polymorphie; elle est encore accrue par ce fait que, même sous leur aspect le plus caractéristique, elles peuvent être confondues avec les colonies d'un certain nombre de micro-organismes. »

La méditation de ces quelques lignes serait, selon nous, très profitable à ceux qui entreprennent des recherches sur le bacille typhique.

L'ensemencement des cultures est très simple : dans les organes extraits du cadavre, après les avoir lavés au sublimé, et avoir pratiqué plusieurs coupes en divers sens avec des couteaux stérilisés, on enfonce une aiguille de platine qui sert à inoculer la gélatine en tubes. Sur le vivant, le seul ensemencement qui réussisse est celui pratiqué avec une parcelle de pulpe splénique, retirée par la ponction faite avec toute l'antisepsie possible. Nous avons pu nous assurer nous-même que cette opération laisse des traces si insignifiantes de son passage, qu'à l'autopsie de malades ayant succombé à leur fièvre typhoïde, on retrouve à peine la trace d'une ponction faite trente-six heures avant la mort.

Nous avons vu, que l'examen histologique était impuissant à décéler la présence du bacille d'Eberth

dans les matières fécales et qu'il fallait, pour le mettre en évidence, se servir des ensemencements. Une autre difficulté se présente : si, avec une parcelle si petite qu'on voudra de selle typhoïde, on ensemence un tube à gélatine, les plaques qu'on obtiendra seront peuplées d'un si grand nombre de colonies qu'il sera presque impossible de distinguer les colonies spécifiques du bacille typhique.

On peut tourner la difficulté, diluer cette parcelle dans une certaine quantité d'eau stérilisée et faire l'ensemencement avec une goutte du mélange.

M. Chantemesse indique un autre procédé qui consiste à ajouter quelques gouttes de solution phéniquée à 1/20 dans chaque tube à gélatine. L'acide phénique dans ces proportions ne gêne en rien le développement des germes du bacille typhique, tandis qu'il empêche en grande partie la pullulation des colonies étrangères.

Biologie du bacille. — Nous avons déjà dit que le bacille typhique était un organisme indifférent au point de vue de l'oxygène, et qu'il se cultivait aussi bien à l'air que dans le vide.

Le bacille typhique peut se reproduire par scission transversale ou par sporulation. Gaffky, le premier a bien décrit les spores et l'on n'a depuis rien ajouté à sa description ; la spore apparaît à l'extrémité du bacille (fig. 146) sous forme d'un petit corps arrondi très réfringent, ne se colorant pas par les couleurs d'aniline ; on les voit surtout sur des cultures sur pommes de terre laissées plusieurs jours entre

35 et 40°. La spore du bacille typhique est très résistante, Chantemesse a pu chauffer sans les tuer des bactéries sporulées à 60, 70, 80 et 90°, mais il ne dit



FIG. 146. — Sporulation du bacille typhique (d'après Chantemesse et Widal).

pas pendant combien de temps; à 100° les spores étaient mortes et stériles.

Le bacille typhique résiste également très bien à la dessiccation, et il garde très longtemps sa vitalité dans les vieux tubes de culture sur gélatine.

La température la plus favorable à son développement oscille entre 25 et 35° centigrades.

Brieger a extrait des vieilles cultures de bacilles typhiques un alcaloïde très toxique qu'il a appelé *typhotoxine*.

Si nous étudions maintenant l'action des substances antiseptiques, nous voyons que la culture du bacille typhique est empêchée par les substances suivantes :

Acide phénique à $\frac{1}{200}$
Sublimé à $\frac{1}{20,000}$
Acide chlorhydrique à $\frac{1}{100}$
Chlorure de chaux à $\frac{5}{100}$
Sulfate de quinine à $\frac{1}{800}$

Inoculation aux animaux. — Jusqu'ici, les animaux ont été réfractaires à toutes les inoculations faites avec le bacille typhique; il y a à cela une raison fort simple, c'est que les animaux ne prennent pas spontanément de maladie qui ait quelque rapport avec la fièvre typhoïde de l'homme. La fièvre typhoïde des chevaux n'a rien de commun avec la dothiénentérie.

Gaffky avait déjà tenté des expériences en infectant ou en faisant ingérer ses cultures à des animaux variés (singes, lapins, cochons d'Inde, rats blancs, souris, taupes, pigeons, coqs, veaux); les résultats furent complètement négatifs; la plupart des animaux survécurent; et, chez ceux qui succombèrent, on ne trouva aucune lésion relevant de la fièvre typhoïde.

Les expériences de Gaffky furent reprises, et les auteurs qui ont suivi sont arrivés à des résultats contradictoires, les uns pensant que les animaux qui meurent sont intoxiqués par une ptomaïne, les autres déterminant des septicémies avec lésions de la rate et des plaques de Peyer.

Les expériences de MM. Chantemesse et Widal les ont amené aux conclusions suivantes :

L'inoculation, dans le péritoine des souris, d'un centimètre cube de bacilles typhiques cultivés à la température ordinaire, détermine chez ces animaux une septicémie qui les tue, le plus souvent, en vingt-quatre heures.

Les inoculations faites dans le tissu cellulaire avec des cultures prises à la surface de la gélatine déter-

minent une septicémie qui évolue beaucoup plus lentement, qui tue le plus souvent en dix ou douze jours.

Les inoculations faites dans le péritoine des cobayes réussissent à peu près dans la moitié des cas et la mort survient, en général, après un ou deux jours.

A l'autopsie de tous ces animaux, on retrouve des cultures du bacille typhique dans les ganglions mésentériques, dans le foie, la rate, dans les poumons, quelquefois dans le cerveau.

Les inoculations faites, chez les lapins, dans le péritoine ou les veines de l'oreille, déterminent des symptômes tels que fièvre, diarrhée, amaigrissement rapide, survenant après une période d'incubation de quelques jours ; souvent, l'animal résiste et guérit; la mort immédiate est exceptionnelle. Dans un cas, quatorze jours après l'inoculation, on a trouvé des lésions rappelant celles de la fièvre typhoïde, et le bacille persistait vivant dans les organes.

Les inoculations dans le péritoine des souris, avec des bouillons de culture stérilisés par une ébullition de quelques minutes, ne déterminent qu'exceptionnellement la mort.

L'inoculation avec des liquides de culture exposés pendant quelques jours à l'étuve entre 42 et 45°, liquides possédant de nombreux bacilles vivants, n'a tué qu'une souris sur huit.

Telles sont les conclusions de MM. Chantemesse et Widal en ce qui concerne les inoculations aux animaux.

Mécanisme de l'infection naturelle. — Voyons

maintenant quelles sont, chez l'homme, les portes d'entrée du microbe, et comment on peut contracter la maladie.

La tendance actuelle des hygiénistes est de regarder l'eau potable comme la voie ordinaire de la transmission du poison typhique ; le bacille d'Eberth se cultive et se conserve fort bien dans l'eau simple pendant fort longtemps, voilà le fait brutal. Des épidémies récentes, suivies de recherches scientifiques assidues, semblent donner gain de cause à cette manière d'envisager la contagion (épidémie de Pierrefonds, de Clermont-Ferrand). Nous ne pouvons donner ici le détail de ces intéressantes recherches et nous renvoyons pour cela le lecteur aux mémoires de MM. Brouardel et Chantemesse; nous ajouterons seulement quelques observations.

Lorsqu'on voudra se livrer à la recherche du bacille typhique dans une eau potable, on devra agir avec une grande circonspection; en effet, nous avons vu plus haut que parmi tous les caractères du bacille typhique aucun ne lui est absolument spécial. Aussi ne devra-t-on pas se contenter d'un examen superficiel et rechercher *tous* les éléments de diagnostic en faisant un grand nombre de préparations et en les faisant passer par toute la succession des procédés techniques. De toute façon, ce sera toujours une recherche fort minutieuse et fort difficile, étant données les nombreuses causes d'erreur auxquelles on est exposé. M. Chantemesse conseille, pour cette recherche, d'utiliser l'acide phénique, comme pour la recherche du bacille dans les matières fécales.

Quoi qu'il en soit, il est bien certain que l'eau n'est pas le seul moyen de propagation de la maladie. Les matières fécales desséchées, les linges souillés sont bien probablement un mode de contagion. Dans nos hôpitaux, les infirmiers que nous voyons être atteints par la maladie ont été, la plupart du temps, contagionnés directement.

Prophylaxie. — D'après ce que nous venons de voir, il est facile de déduire les règles à suivre pour empêcher la diffusion du mal :

1° Désinfecter les matières fécales : les meilleurs désinfectants chimiques sont le sublimé et le chlorure de chaux employés en fortes proportions ; le moyen le plus pratique est la chaleur et spécialement l'eau bouillante, puisque la température de 100° rend inactif très rapidement le bacille typhique.

2° Consommer de l'eau filtrée à travers un filtre de porcelaine qui amène une stérilisation parfaite : si on ne possède pas cet instrument, une ébullition de quelques minutes à 100° pourra y suppléer.

CHAPITRE XI

LE CHOLÉRA. — LE BACILLE VIRGULE

Historique. — Le choléra est une maladie infectieuse endémique dans certaines contrées, principalement dans l'Inde, d'où le nom de *choléra asiatique*, qui lui est souvent donné pour le distinguer d'accidents analogues, d'origine saisonnière, qui portent le nom de *choléra nostras*, propres à nos contrées. En Europe, le choléra sévit toujours par épidémies, dont la gravité paraît aller toujours en s'amoindrissant, du moins en France, depuis la première grande épidémie de 1832.

La notion de la contagiosité du choléra par les déjections, par les linges, par les navires venant de pays infectés, avait depuis longtemps été acceptée et l'on ne pouvait s'empêcher d'attribuer la cause de la maladie à un contage parasitaire. Avant les recherches de Koch, un certain nombre d'auteurs avaient signalé la présence de bactéries dans les selles des cholériques sans y attacher cependant une valeur spécifique.

Virchow en 1848, Pouchet en 1849, Pacini en 1855

décrivirent des vibrions dans les déjections cholériques ; en 1873, Hayem et Reynaud faisaient également des recherches sur les bactéries des selles cholériques; ils en décrivirent plusieurs espèces, mais sans émettre l'idée que l'une d'elles fût spéciale à la maladie.

Les premières recherches suivies sur les bactéries du choléra furent celles de Koch en Egypte et dans l'Inde et de la mission française en Egypte en 1883 (MM. Strauss, Roux, Nocard et Thuillier).

Les premiers résultats positifs furent publiés par Koch dans sa première conférence à l'office sanitaire allemand le 26 juillet 1884.

Les premiers, MM. Nicati et Rietsch, de Marseille, parvinrent à donner la mort à des animaux (chiens, cobayes) en leur injectant dans le duodénum du liquide intestinal provenant d'une autopsie de cholériques.

Koch n'a trouvé le parasite que dans l'intestin, il ne l'a rencontré ni dans le sang, ni dans les organes et il lui a donné le nom de *Komma bacillus* (bacille virgule).

Koch réussit également à faire des cultures pures de son bacille.

Recherche et coloration de la bactérie du choléra — On peut rechercher le bacille virgule soit dans les cultures, soit dans les liquides intestinaux, soit dans les coupes d'organes, et cette recherche peut avoir pour but, soit d'observer le bacille mort et coloré, soit vivant, en suivant son évolution. C'est surtout

dans les cultures que cette dernière recherche doit être faite.

Voici d'abord comment on procède pour la recherche dans les liquides.

Méthode de Nicati et Rietsch. — Une petite quantité de selles ou de grattage de la membrane muqueuse de l'intestin est étendue sur une lamelle et séchée; elle est ensuite plongée pendant quelques secondes dans une solution de sublimé ou dans l'acide osmique à 1 p. 100. On colore ensuite dans une solution de fuchsine, dans une solution aqueuse saturée d'huile d'aniline; on lave, on sèche, et on monte avec le baume de Canada.

Procédé de Doyen. — Le liquide à examiner est étalé en couche mince sur des lamelles et séché *à la température ordinaire.* On fait séjourner une lamelle une minute environ dans un verre de montre contenant une solution aqueuse concentrée de violet de méthyle 6 B ou de fuchsine. L'excès de matière colorante est enlevé par lavage dans l'eau distillée. La lamelle est séchée en quelques instants par un courant d'air, puis montée au baume en solution dans le xylol. L'action de l'alcool décolore en quelques secondes le bacille virgule, à moins qu'on ait employé, comme pour les coupes, le sublimé à 1 p. 100. La méthode d'Ehrlich, suivie de l'action de la solution de Gram, colore les bactéries ordinaires, mais laisse parfaitement invisibles les bactéries du choléra. Doyen s'est servi de ce fait pour employer dans l'examen du liquide intestinal le procédé sui-

vant de double coloration : coloration pendant dix minutes à 40° par la solution d'Ehrlich faite avec le violet 6 B ; séjour de la lamelle pendant huit minutes dans la solution iodo-iodurée de Gram ; lavage à l'alcool absolu, décoloration par l'essence de girofle, nouveau lavage à l'alcool absolu, et séjour de la lamelle ainsi traitée pendant quelques secondes dans une solution aqueuse saturée de fuchsine ; lavage à l'eau distillée, dessiccation par un courant d'air et montage dans le baume. Ces préparations sont très démonstratives, surtout s'il s'agit d'un liquide où les bacilles virgules sont rares au milieu d'autres bactéries. Presque toutes les bactéries communes sont colorées en violet intense ; le bacille virgule et deux ou trois autres espèces que l'on rencontre, notamment dans le cœcum du cobaye, ainsi que le fond de la préparation, sont colorés en rouge.

Procédé de Cornil. — Ce procédé permet d'étudier le bacille virgule encore vivant, quoique coloré ; on peut ainsi facilement étudier ses mouvements. On étale sur une lame porte-objet un petit fragment d'un flocon muqueux, pris dans un liquide diarrhéique ; on laisse sécher à demi, et on y met une goutte de solution faible de violet de méthyle dans l'eau distillée. On recouvre avec une lamelle et on presse cette dernière avec du papier à filtrer pour enlever le liquide colorant en excès. On examine avec un objectif à immersion homogène. Les bacilles virgules sont alors animés de mouvements très vifs qu'ils conservent pendant longtemps, bien qu'ils soient colo-

rés, et on peut les voir avec leurs véritables dimensions, n'étant pas ratatinés par le chauffage et la dessiccation.

Voici maintenant les procédés de coloration du bacille dans les coupes qui sont faites après durcissement dans l'alcool absolu.

Procédé Doyen. — Colorer à 45° centigrades pendant une demi-heure avec une solution concentrée de violet 6 B. Porter de là dans une solution de sublimé à 1 p. 100, où les coupes séjournent une minute, puis décolorer par l'alcool absolu et l'essence de girofle et monter dans le baume au xylol.

Méthode de Koch. — Les sections de l'intestin bien durcies dans l'alcool absolu, sont abandonnées pendant vingt-quatre heures dans une forte solution aqueuse de bleu de méthylène, ou pendant un temps plus court si la solution est chauffée. Il ne reste plus qu'à laver, déshydrater et monter par la méthode ordinaire.

Procédé de Babès. — Les coupes sont laissées pendant vingt-quatre heures dans une solution aqueuse de fuchsine, puis on les lave dans l'eau distillée faiblement acidulée avec l'acide acétique, ou dans une solution de sublimé à 1 p. 1000. On les passe rapidement dans l'alcool et l'essence de girofle, on les sèche avec du papier filtre et on monte dans le baume.

Culture, morphologie et physiologie du bacille virgule. — On peut cultiver le bacille virgule soit

sur la gélatine peptone, soit sur l'agar-agar ou le sérum gélatinisé.

Avant de faire des cultures méthodiques, il faut d'abord isoler les bactéries cholériques par le procédé des plaques. Pour obtenir sur les plaques des colonies bien distinctes les unes des autres, il faut procéder par la méthode des dilutions décrite (page 314). Un flocon muqueux est dilué avec quelques grammes d'eau distillée stérilisée et on ensemence la gélatine liquéfiée avec une goutte de ce liquide pour

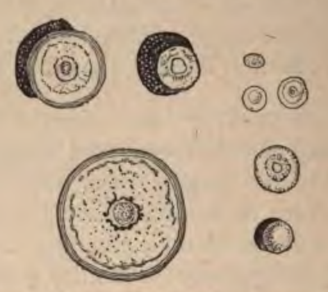


FIG. 147. — Diverses phases du développement d'une colonie du bacille virgule sur plaque de gélatine, du 1er au 6e jour à 20° (d'après Cornil).

avoir la solution *originale*. Les colonies se développent facilement à 20° dans ces conditions ; au bout de vingt-quatre heures, on observe l'apparition de petits points opaques ; à un grossissement de 5 à 10 diamètres, on remarque que ceux de ces points qui sont voisins de la surface de la gélatine sont plus étendus que les colonies situées dans la profondeur, le bacille virgule étant aérobie.

Au bout de trente heures, on observe que les colonies superficielles se composent d'un point central plus compacte et d'une zone périphérique un peu plus claire, limitée par un bord festonné opaque, ces colonies s'entourent peu à peu d'une zone liquéfiée et au bout de trente-six heures, elles ont l'aspect d'une tache jaunâtre, formée d'un point central opaque avec une zone claire, entourée elle-même d'un second anneau un peu moins opaque que le centre : la colonie forme une sorte de dépression en cupule. Si les co-



FIG. 148. — Colonies du bacille virgule à 16°.
(Les quatre colonies supérieures sur gélatine — les trois autres sur l'agar-agar), du 2e au 6e jour (d'après Cornil).

lonies sont très rapprochées, elles se réunissent en formant des figures irrégulières et si elles sont nombreuses, la gélatine est liquéfiée au bout de quarante-huit heures en presque totalité.

Pour obtenir une culture pure du bacille virgule, on examine à 50 diamètres une des colonies en se servant de l'appareil Abbé muni d'un diaphragme à

petite ouverture, puis on prend avec une aiguille de platine stérilisée un petit fragment de la colonie avec lequel on ensemence un tube de gélatine à 10 p. 100 ou un tube d'agar-agar : la gélatine par piqûre, et sur l'agar-agar en surface inclinée.

Dans la gélatine maintenue à 25°, au bout de huit à dix heures, la culture du bacille virgule se présente sous forme d'une traînée opaque avec une légère dépression superficielle. Au bout de vingt-quatre heures, la culture a la forme caractéristique d'un clou (planche VI) à extrémité émoussée et à la partie supérieure duquel existent un léger évasement et une sorte de bulle d'air. La colonie offre deux parties bien distinctes, l'une plus claire, périphérique, l'autre centrale ressemblant à une petite spirale granuleuse tirant légèrement sur le brun. Cette spirale est formée par des bacilles virgules qui sont tombés au fond de la gélatine liquéfiée.

Plus tard, si on maintient la température de 25°, toute la gélatine du tube finit par se liquéfier; si, au contraire on abandonne le tube à 15° ou 16° la liquéfaction s'arrête ordinairement.

Sur l'agar-agar solidifié obliquement, le bacille virgule se présente au bout de vingt-quatre heures sous forme d'une bande saillante blanche et transparente bien limitée. Sous une vieille culture, l'agar-agar devient brun.

Dans le sérum gélatinisé, le développement se fait surtout en surface, le bacille virgule se développe rapidement en creusant une cupule qui se comble par un liquide épais. On peut aussi le cultiver sur les

pommes de terre, où il se développe sous forme d'une couche brun grisâtre analogue à l'empois.

Pour la culture à 37°, on ne peut se servir que de l'agar-agar ou du sérum et des milieux liquides. Le meilleur milieu liquide est un bouillon gélatineux à 10 p. 100 qu'on liquéfie simplement après l'avoir ensemencé en le portant dans l'étuve à 37°.

Tous les milieux de culture du bacille virgule doivent être alcalins, cet organisme ne pouvant vivre dans un milieu acide.

Le bacille virgule est un petit bâtonnet courbé en forme de croissant ou de virgule (fig. 149) ayant environ 3 μ de longueur et 0 μ, 8 de largeur. Il est doué de mouvements très rapides, oscillatoires : on peut étudier facilement ces mouvements en mettant une



FIG. 149. — Bactéries du choléra dans une culture sur gélatine-peptone.

parcelle de culture dans une chambre humide de Ranvier avec une gouttte d'une solution aqueuse très diluée de violet 6 B. Comme la bactérie est aérobie, c'est sur le bord de la goutte qu'on voit surtout ses mouvements.

Les bactéries du choléra ne se présentent pas toujours sous la forme simple d'une virgule : si on examine une culture de deux ou trois jours, on voit

d'autres formes : la forme en *S* formée par deux bacilles ayant leur concavité tournée en sens contraire (fig. 149), et surtout la forme en spirille. Toutes ces formes ne sont probablement que diverses phases du développement de la même bactérie, et ces formes alternativement spiralées, en *S* et en croissant, ne sont pas spéciales au bacille du choléra, nous avons eu maintes fois l'occasion d'observer les mêmes formes pour des spirilles communs rencontrés dans les eaux crou-



FIG. 150. — Bactéries du choléra dans le liquide muqueux de l'intestin (d'après Doyen).

pies. On n'a pas vu jusqu'ici la bactérie du choléra former des spores. Mais dans les parties des cultures à l'abri de l'air, on voit des modifications survenir aux bacilles virgules, modifications qui ne sont sans doute que des formes involutives de cet organisme.

Certains de ces éléments, montrent au bout de plusieurs jours des petites sphères situées à leur extrémité, qui deviennent libres à un moment donné dans

le liquide de la préparation. Ces petites sphères de trois à quatre μ de diamètre sont souvent hérissées de sphères plus petites : ce sont là sans doute les corps mûriformes de Ferran. Ces formes involutives apparaissent rapidement, lorsque les conditions de développement de la bactérie sont défavorables (température inférieure à 16°, milieu peu nutritif).

La vitalité du bacille virgule est très faible, comparée à celle des bacilles du charbon et de la tuberculose; la bactérie cholérique est aérobie et ne se développe bien qu'au contact de l'oxygène. Le bacille virgule ne se développe bien qu'au-dessus de 16° : sa température de prédilection est de 37° à 38° centigrades; à 40°, le développement est presque arrêté; de 50° à 55°, il est tué en une demi-heure. Le froid ne le détruit pas : à 10° au-dessous de zéro, il reste vivant et si on le replace dans des conditions normales de milieu et de température on le voit pulluler de nouveau. La dessiccation tue rapidement la bactérie du choléra. Un milieu acide est contraire au développement du bacille virgule, qui est arrêté par l'addition dans un tube de gélatine d'une goutte d'une solution d'acide chlorhydrique à 1 p. 100. Les doses suivantes de substances antiseptiques empêchent le développement du bacille virgule dans les cultures.

Sublimé à $\frac{1}{100,000}$
Sulfate de quinine $\frac{1}{5,000}$
Sulfate de cuivre $\frac{1}{2,500}$
Acide phénique $\frac{1}{400}$

Les auteurs ont cherché à savoir si le bacille virgule agissait par lui-même ou par les produits toxiques qu'il est susceptible de former ; Koch croit avoir trouvé des poisons chimiques dans le choléra. Pouchet a extrait des déjections cholériques une substance extrêmement toxique. Villiers a isolé un alcaloïde qui intoxique les cobayes et les fait rapidement mourir.

Nous venons d'exposer l'histoire du bacille virgule, telle qu'elle est aujourd'hui rapportée par la plupart des auteurs ; mais il est bon de savoir que plusieurs observateurs font encore à l'heure actuelle des réserves formelles.

Finkler et Prior trouvèrent dans le *choléra*

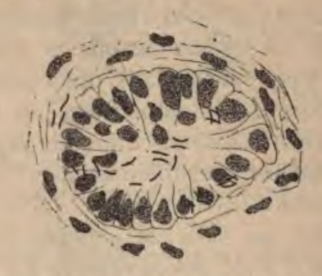


FIG. 151. — Coupe d'une glande en tube de l'intestin grêle, contenant des bactéries du choléra.

nostras un bacille virgule morphologiquement semblable à celui du choléra asiatique. Cette forme en virgule, d'ailleurs, ainsi que nous l'avons déjà remarqué plus haut, n'est qu'une forme de passage commune à tous les spirilles. Le bacille de Finkler se

distingue de celui de Koch par la forme de ses cultures dans les tubes de gélatine-peptone. Au début de la culture elles ont bien la même forme ; mais lorsqu'on cultive parallèlement les deux organismes on voit que celui de Finkler se développe beaucoup plus vite et la gélatine est rapidement liquéfiée par lui, tandis que dans le même temps la forme caractéristique de clou est à peine apparue pour le bacille de Koch. (Planche VI.)

Expérimentation sur les animaux. — Koch, au début de ses recherches, avait tenté en vain de donner le choléra aux animaux qu'il avait emportés avec lui en Egypte et dans l'Inde en leur faisant manger des déjections de cholériques, ou des cultures pures de bacilles virgules, même en ayant au préalable déterminé un catarrhe intestinal ; ils avaient de la diarrhée et c'était tout.

Nicati et Rietsch produisirent des accidents analogues au choléra en injectant le virus dans le duodénum après ligature du canal cholédoque. Koch modifiant son premier procédé, réussit à donner le choléra aux cobayes en procédant de la façon suivante : injection dans l'estomac d'une solution de carbonate de soude à 5 p. 100 suivie de l'injection dans l'estomac de 10 centimètres cubes d'un bouillon contenant des bacilles virgules et immédiatement après, injection péritonéale de teinture d'opium (1 centimètre cube par 200 grammes de poids de l'animal).

Koch attribuait une grande importance dans la

pathogénie du choléra expérimental à l'état de torpeur dans lequel il plonge ses animaux par l'injection opiacée péritonéale.

Doyen a montré, que la teinture d'opium injectée par Koch, agit par son alcool, et non par le narcotique, et qu'on obtient les mêmes résultats expérimentaux en remplaçant dans l'expérience de Koch la teinture d'opium par de l'alcool à 50 ou 60° (1 centimètre cube par 200 grammes de cobaye).

Les cobayes qui subissent ce traitement succombent en général de bonne heure, une bonne partie avant vingt-quatre heures, et la majorité avant trente-six heures : ils présentent une soif très vive, buvant de grandes quantités de lait et d'eau pure. Ils ont des crampes et une diarrhée séreuse ressemblant à la fin à un mucus visqueux contenant de nombreux grumeaux blanchâtres en suspension. Ils maigrissent énormément et la mort arrive dans l'algidité et dans le coma.

En ce qui concerne l'inoculation chez l'homme, nous ne rappellerons que pour mémoire les expériences de Bochefontaine qui avait ingéré des pilules de déjections cholériques; expériences tout au moins inutiles et sans profit pour la science. Le résultat devait forcément être négatif comme il l'est chez les animaux, puisque nous savons que la moindre trace d'acide chlorhydrique libre suffit pour rendre inoffensif le bacille virgule.

Étiologie du choléra. — Nous avons dit que, en ce qui concerne l'action pathogène du bacille virgule

pour la production du choléra asiatique, plusieurs bactériologistes formulaient quelques réserves; Klein, entre autres, qui à l'exemple de Koch a été étudier le choléra dans l'Inde est beaucoup moins affirmatif que l'auteur allemand. De Bary fait remarquer, après avoir exposé les travaux de Klein, combien sont peu certains les résultats et opinions acquis sur le choléra et combien nous savons peu de choses sur les bactéries qui produisent cette maladie. Nous nous contenterons entre ces deux opinions divergentes de garder une prudente neutralité.

Quoi qu'il en soit, on sait depuis longtemps que la contagion du choléra est subordonnée aux relations qui existent entre les peuples, et qu'il n'est jamais sorti du delta du Gange que porté par l'homme, soit par terre, soit par la navigation,

Par terre, l'homme transporte sur lui le germe cholérique et le propage par ses déjections, par ses linges. Sur les navires, les liquides de la cale sont un excellent milieu de culture, et c'est après le débarquement de la cargaison que la maladie éclate.

Dans une même région, les épidémies se propagent ordinairement par les eaux, et il est habituel de voir les contrées en aval d'un point contaminé être atteintes à leur tour : Koch a observé des bacilles virgules dans les eaux d'un étang voisin d'un district contaminé.

De toute façon, le choléra frappe de préférence les misérables, les surmenés et les alcooliques, les conditions hygiéniques paraissant, en dehors de toute autre cause, procurer une réelle réceptivité morbide.

Thérapeutique et prophylaxie. — La connaissance du bacille virgule a fort peu ajouté à ce que l'on savait au point de vue des moyens prophylactiques à employer contre le choléra. Jamais les selles ne seront jetées dans les fosses avant d'avoir été désinfectées avec une solution de sublimé à 1 p. 1000. Désinfection du linge et des objets souillés par l'eau bouillante ou dans une étuve sèche : toute personne qui approche d'un cholérique devra tout particulièrement se désinfecter les mains. Ensevelissement rapide des cadavres dans des substances antiseptisées (sciure de bois arrosée de solutions de sublimé au millième).

Le choléra fait partie de ces maladies infectieuses qui ne confèrent pas l'immunité après une première atteinte, et il peut frapper plusieurs fois le même individu. Aussi est-il difficile de penser dans ce cas à des vaccinations préventives. Nous rappellerons cependant qu'en 1885 le Dr Ferran en Espagne préconisait une méthode de vaccination dont il était l'inventeur. Les vaccinations de M. Ferran paraissent avoir affecté plutôt les allures d'une entreprise commerciale que d'une découverte scientifique ; d'ailleurs l'épidémie d'Espagne où opérait M. Ferran a été plus meurtrière que toutes celles qui l'avaient précédée et nous n'avons cité cette tentative de vaccination que pour être complet.

CHAPITRE XII

LE BACILLE DE LA TUBERCULOSE

Historique. — Laënnec le premier conçut la spécificité de la tuberculose, il vit que les tubercules sont des productions étrangères et vivant d'une vie spéciale et il entrevoit même l'inoculabilité de cette maladie. Dans les travaux qui suivirent ceux de Laënnec, travaux remarquables à tous égards, les auteurs s'efforcent, soit de trouver au tubercule un élément spécifique, soit de différencier cette production des tumeurs et des produits inflammatoires.

La spécificité de la tuberculose et surtout sa transmissibilité et son inoculabilité, ont été d'abord mises en lumière par les travaux de Villemin. C'est à lui qu'appartient l'honneur d'avoir démontré que l'on pouvait inoculer aux animaux la tuberculose de l'espèce humaine. Voici quel était le procédé employé par le savant professeur du Val-de-Grâce. Il faisait à l'oreille d'un lapin ou à l'aine d'un chien une petite plaie sous-cutanée dans laquelle il infiltrait avec une épingle une parcelle de matière tuberculeuse prise sur l'homme ou sur un animal tuberculeux : quelques

jours après, il se produit un tubercule au point d'inoculation et au bout de quelque temps on voit les animaux maigrir, se cachectiser et périr bientôt dans un profond marasme. A l'autopsie, on trouve généralement au point d'inoculation une masse caséeuse, accompagnée de granulations jaunâtres ; les ganglions correspondant au point inoculé ont généralement subi la transformation caséeuse. On trouve le plus souvent des lésions tuberculeuses dans le poumon et les autres viscères (rein, foie, rate, etc.), surtout dans les séreuses, spécialement l'épiploon et le mésentère. Le tubercule y est représenté par toutes ses formes anatomiques habituelles.

La découverte de Villemin fut d'abord controversée, et accueillie par l'incrédulité. Plusieurs expérimentateurs démontrèrent qu'en injectant dans les mêmes conditions des corps inertes ou des produits pathologiques quelconques, tels que raclage de tumeurs cancéreuses, on obtenait également des tubercules chez les animaux ; Connheim montra même, qu'il suffisait de faire une plaie à l'oreille d'un lapin pour produire le même résultat. Cependant toutes ces expériences étaient inconstantes dans leurs effets, et seule l'inoculation de la substance tuberculeuse avérée, produisait sûrement des tubercules.

Hippolyte Martin a établi, que par l'injection de ces substances inertes, on ne produit que des *pseudo-tuberculoses ;* en effet, ces produits macroscopiquement et microscopiquement identiques diffèrent complètement par leurs propriétés. Si on

cherche à inoculer de nouveaux lapins avec les tubercules produits par des matières inertes, la poudre de lycopode par exemple, on voit ces inoculations ne produire aucun effet. Si au contraire on pratique la même opération avec les tubercules provenant de l'inoculation de produits tuberculeux vrais, la maladie, loin d'aller en s'éteignant comme dans le premier cas, va au contraire en s'exaspérant d'intensité, comme si sa virulence augmentait par ces véritables *inoculations en série.* La découverte par Villemin de l'inoculabilité de la tuberculose, la démonstration de la virulence par les inoculations en série, firent bientôt rapprocher cette maladie des infections en général, et on se mit à chercher le micro-organisme caractéristique du virus tuberculeux.

En 1877, Klebs essaya le premier d'isoler le micro-organisme de la tuberculose, en le débarrassant par la culture des produits étrangers, et il inocula ces cultures aux animaux. Klebs se servait, comme substratum de culture, d'albumine d'œuf qu'il inoculait avec une parcelle de substance caséeuse. Après des passages répétés à travers des milieux successifs, il injecte la substance cultivée, dans le péritoine de chats, auxquels il communique une tuberculose des plus nettes. D'après ses recherches, le microbe de la tuberculose est très petit, ayant 2 dix-millièmes de millimètres; il est doué de mouvements très actifs. A côté de ceux-là, il rencontre de petits bâtonnets courts et grêles, également fort mobiles et ayant environ 2 millièmes de millimètre de longueur; ces bâtonnets sont souvent accouplés deux à deux.

D'après Klebs, ce dernier organisme est le microbe spécifique, et il lui donne le nom de *monas tuberculosum*.

Vers la même époque, Toussaint essayait aussi, par les méthodes pastoriennes, de découvrir le germe infectieux de la tuberculose.

En 1880, il cultiva des tubes Pasteur, chargés de bouillon de viande de chat, de porc et de lapin, qu'on avait inoculés avec du sérum de sang d'une vache tuberculeuse et d'autres tubes contenant du sérum pur. Les inoculations qu'il fit avec ces cultures ne furent pas démonstratives. Plus tard, il mit en culture des fragments de tubercules pris directement dans les poumons d'animaux morts tuberculeux; il ne réussit pas encore complètement, car ses cultures contenaient un grand nombre de microbes différents, mais l'inoculation de ces cultures chez des chats et des lapins leur donna la tuberculose.

D'après Toussaint, le microbe était un microcoque très ténu ($0^{mm},0001$ à $0^{mm},0002$), immobile.

On voit que les descriptions de Klebs et celles de Toussaint ne concordaient en aucune façon; mais, malgré l'impureté de leurs cultures, tous deux avaient réussi, par l'inoculation de ces cultures, à déterminer la tuberculose chez divers animaux.

L'honneur d'avoir découvert les véritables bactéries de la tuberculose, appartient incontestablement à Robert Koch; sa première communication fut faite le 24 mars 1882 à la Société de physique de Berlin. Le procédé qu'il employa pour arriver à les colorer (violet de méthyle et vésuvine) est exposé plus loin.

Il les avait d'abord aperçues, sans les colorer, dans les crachats de malades tuberculeux, dans des coupes de tubercules miliaires, à la surface des cavernes, sous forme de bacilles grêles et allongés. Dans les lésions tuberculeuses communiquant avec l'air, il les rencontrait ordinairement mêlés par petits amas à des bactéries vulgaires. Koch poussa plus loin ses investigations et, après avoir coloré les bactéries tuberculeuses, après leur avoir assigné des caractères spécifiques, il réussit à les cultiver sur des plates-cultures de sérum gélatinisé ; ces cultures étaient pures d'autres organismes, et par leur inoculation, Koch déterminait la tuberculose d'une manière à peu près infaillible.

Les travaux qui ont suivi le mémoire de Koch sont surtout relatifs aux perfectionnements apportés à la technique permettant d'apercevoir le micro-organisme, ou bien à la découverte du bacille de Koch dans différents milieux où on ne l'avait pas vu à l'origine. Nous ne pouvons même pas résumer ici ces intéressants travaux, leur nombre et leur étendue nous feraient forcément sortir du cadre que nous nous sommes tracé pour cet ouvrage.

Nous citerons seulement les communications faites par MM. Malassez et Vignal à la Société de biologie, où ces auteurs décrivent une forme spéciale de tuberculose, dans laquelle l'agent infectieux serait différent du bacille de Koch et serait représenté par des amas de bactéries sous forme de zooglées, d'où, le nom de tuberculose zoogléique que ces auteurs attribuent à la maladie qu'ils ont étudiée : nous

reviendrons d'ailleurs plus loin sur cette forme, et nous aurons à discuter la question de savoir s'il s'agit bien là de tuberculose véritable.

Disons, pour terminer, que, dans l'état actuel de la science, le bacille de Koch est admis sans conteste comme l'agent infectieux spécifique de la tuberculose sous toutes ses formes cliniques, et que sa recherche constitue, soit au lit du malade, soit au laboratoire, un puissant élément de diagnostic clinique ou anatomique.

Morphologie de la bactérie tuberculeuse. — Les micro-organismes de la tuberculose se présentent sous un aspect très différent, suivant qu'on les examine avec ou sans coloration préalable; ils sont fort difficiles à voir s'ils ne sont pas colorés. On peut arriver à les distinguer à l'état de nature dans les crachats de phtisiques, qui en contiennent un grand nombre, si l'on a, au préalable, traité ces crachats par une solution faible de potasse. Ils se présentent alors sous la forme de bâtonnets réfringents, incolores et immobiles, dans lesquels on ne distingue ni spores, ni granulations. Dans ces conditions, ils paraissent plus gros que dans les préparations définitives, où la dessiccation, la déshydratation et l'action successive des divers réactifs leur a fait subir un certain ratatinement.

Lorsque les bactéries de la tuberculose ont été colorées par une des méthodes indiquées plus loin, et spécialement par celle d'Ehrlich, qui est, dans ce cas, une méthode de choix, on apprécie bien plus facilement les détails de leur forme et de leur structure.

Elles se présentent sous l'aspect de petits bâtonnets de 3 à 5 μ de longueur, sur 0 μ,3 à 0 μ,5 de largeur, à peu près cylindriques dans toute leur longueur ; leurs extrémités sont arrondies, mais non renflées. Ces bâtonnets sont habituellement légèrement arqués suivant leur grand axe, quelquefois recourbés en crochet à leurs extrémités; ils sont tantôt homogènes, tantôt formés par de petits corps placés bout à bout, comme s'ils étaient fragmentés.

Lorsqu'on vient à étudier les bacilles de Koch avec de très forts grossissements (Zeiss, $\frac{1}{18}$, par exemple) après qu'ils ont été colorés, on est frappé de ce fait que la coloration n'est pas faite dans le bâtonnet d'une manière uniforme; il y a une succession de parties claires et de parties colorées : sont-ce là les spores du bacillus tuberculosus? (Planche VII.) Cette explication est en contradiction avec ce fait énoncé plus haut, que ces spores n'existent jamais dans les bacilles à l'état de nature avant d'avoir subi la coloration; d'ailleurs, ces granulations ne se montrent pas avec la forme habituelle bien définie des spores véritables, mais elles sont irrégulières et très variables dans leurs dimensions, de plus, ces espaces clairs sont au nombre de trois ou quatre par bacille, ce qui est contraire à la loi générale, qui veut qu'il n'y ait qu'une spore par bâtonnet. Il est probable que cet aspect est dû aux traitements qu'il doit subir pour être coloré; et on doit penser que sous l'influence de la chaleur et des acides, il y a une rétraction du protoplasma qui le fait se réduire en petites masses granulaires avec des espaces clairs interposés, tandis

que l'enveloppe reste parfaitement visible. La sporulation du bacille de la tuberculose serait donc encore à trouver.

Babès a coloré des micro-organismes provenant de vieilles cultures pures, par un séjour de plusieurs jours dans la solution d'Ehrlich, après quoi, il les a décolorés fortement et colorés de nouveau par le bleu de méthylène. Par ce procédé, certains grains restent rouges, tandis que les bâtonnets sont bleus ou rouge pâle. Ces grains rouges sont-ils des spores? Un bacille n'en possède habituellement qu'un placé à une extrémité. Peut-être sont-ce simplement des bacilles boursouflés, comme on en observe dans les vieilles cultures de charbon, ou des microbes étrangers à la tuberculose et introduits accidentellement dans les cultures. En tous cas la question n'est pas résolue; Cornil incline à penser que ce sont là les spores des bacilles tuberculeux, Koch pense que cet aspect est un artifice de préparation.

Procédés de coloration. — Les procédés qui permettent de déceler la présence du bacille de Koch sont nombreux; nous en donnerons ci-après un résumé, d'après Crookshank, des plus usuels. La méthode d'Ehrlich, qui a été décrite page 197 devra être celle à laquelle on donnera la préférence avec celle de Gibbes; les autres procédés pourront servir de contrôle.

Méthode originale de Koch. — On place les préparations sur couvre-objet dans la solution de

Koch pendant vingt-quatre heures ou pendant une heure si la solution est chauffée à 40° C. On rince dans l'eau, on plonge dans une solution aqueuse de vésuvine pendant deux minutes, on rince de nouveau dans l'eau et on examine; ou, après avoir rincé dans l'eau, on traite avec l'alcool, l'essence de girofle et le baume de Canada.

Méthode de Rindfleisch. — Préparer une solution composée de :

Solution alcoolique saturée de fuchsine	10 gouttes.
Eau d'aniline	2 grammes.

Verser dans un verre de montre, et laisser flotter le couvre-objet; chauffer le verre de montre sur la flamme d'une lampe à alcool, jusqu'à ce que la vapeur se dégage. Eloigner de la flamme et laisser reposer pendant cinq minutes. Enlever le couvre-objet et le transporter pendant quelques secondes dans l'alcool acidulé (2 gouttes d'acide nitrique dans un verre de montre rempli d'alcool). Laver dans l'eau distillée, sécher et conserver dans le baume. La double coloration, si elle est nécessaire, s'obtient avec le brun de bismark ou le bleu de méthylène.

Méthode d'Ehrlich modifiée par Orth. — Colorer par la méthode d'Ehrlich, mais décolorer avec l'alcool acidulé (1 partie d'acide chlorhydrique pour 100 parties d'alcool à 70 p.100).

Méthode de Gibbes. — Colorer les préparations sur couvre-objet dans une solution de magenta pendant

15 à 20 minutes. Laver dans une solution d'acide nitrique (1 p. 3) jusqu'à ce que la couleur disparaisse. Rincer dans l'eau distillée. La double coloration s'obtient avec le bleu de méthylène, le vert d'iode, ou la solution aqueuse de chrysoïdine; on laisse les préparations en contact avec la couleur pendant cinq minutes. Laver dans l'eau distillée jusqu'à ce que la couleur ne disparaisse plus. Transporter dans l'alcool absolu pendant cinq minutes; sécher et conserver dans le baume de Canada.

Laisser les coupes dans la teinture pendant une demi-heure, traiter avec l'acide nitrique et laver avec l'eau distillée. Transporter dans le bleu de méthylène jusqu'à coloration intense; laver de nouveau dans l'eau distillée et ensuite dans l'alcool faible. Passer dans l'alcool absolu, l'essence de girofle, et conserver dans le baume de Canada.

Nouvelle méthode de Gibbes. — On place les préparations sur couvre-objet dans la solution à double coloration p. 184 que l'on chauffe dans un tube et que l'on verse dans un verre de montre aussitôt que la vapeur se dégage. On les laisse pendant cinq minutes, puis on les lave dans l'alcool méthylique jusqu'à ce que la couleur ne disparaisse plus, on sèche à l'air ou sur une lampe à alcool, et on monte au baume de Canada. Si on ne chauffe pas la solution, on doit y laisser les couvre-objets plongés pendant une heure. Les coupes sont traitées d'après les mêmes principes, mais on doit les laisser dans la solution pendant plusieurs heures. On évite le plus

possible la contraction des coupes par l'acide nitrique.

Méthode de Baumgarten. — Les préparations de crachats sur couvre-objet se font comme il a déjà été indiqué, puis on les plonge dans une solution très diluée de potasse (1 à 2 gouttes d'une solution de potasse à 32 p. 100 dans un verre de montre d'eau distillée). Le couvre-objet est appliqué sur une plaque de verre et on examine avec un fort grossissement. Les bacilles peuvent être ainsi examinés sans être colorés, et pour éviter toute erreur par suite de confusion avec les autres espèces, le couvre-objet peut être enlevé, séché, passé dans la flamme, et coloré avec une goutte d'une solution aqueuse de fuchsine ou de violet de gentiane. Les bactéries de la putréfaction sont colorées, mais le bacille tuberculeux reste absolument sans couleur.

Nouvelle méthode de Baumgarten. — On prépare une solution comme il suit : laisser tomber 4 à 5 gouttes de solution alcoolique concentrée de violet de méthyle dans un petit verre de montre plein d'eau. Colorer les coupes dans cette solution, les laver dans l'eau, et décolorer dans l'alcool absolu (8 à 10 minutes) ; ou bien, avant de traiter à l'alcool, plonger les coupes pendant cinq minutes dans une solution à moitié saturée de carbonate de potasse. Passer dans l'huile de girofle et monter dans une mixture de baume de Canada (sans chloroforme) et d'essence de girofle en quantités égales.

Le but de cette opération est de différencier les bacilles tuberculeux des bacilles accidentels, attendu que les bacilles tuberculeux sont graduellement décolorés par l'essence de girofle. Les coupes, colorées dans la solution indiquée ci-dessus, sont placées pendant cinq minutes dans l'alcool, puis dans une solution concentrée de brun de bismark dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100. On procède ensuite de la manière déjà indiquée.

Méthode de Neelsen. — Les préparations sur couvre-objet peuvent être rapidement colorées dans la solution de Neelsen chauffée dans un verre de montre jusqu'à ce que la vapeur se dégage. On met les coupes pendant cinq ou dix minutes dans la solution, on les lave alors dans une solution aqueuse d'acide sulfurique (20 p. 100); on rince dans l'eau distillée et on plonge dans le bleu de méthylène. Après deux ou trois minutes, on les passe dans l'alcool et l'essence de girofle, puis on monte dans le baume de Canada.

Méthode de Balmer-Frantzel. — Dissoudre 2 grammes de violet de gentiane fraichement pulvérisé dans 100 grammes d'eau d'aniline. Plonger les coupes pendant vingt-quatre heures et traiter comme dans la méthode d'Ehrlich.

Méthode de Ziehl. — Colorer par la méthode d'Ehrlich, mais sans acide nitrique; on obtient la double coloration avec le bleu de méthylène. Cette

dernière couleur remplace la couleur de toutes les bactéries étrangères à la tuberculose. Les bacilles tuberculeux restent colorés en rouge.

Méthode de Lichtheim. — Une solution concentrée de fuchsine ou de violet de gentiane est diluée dans l'eau distillée et les coupes colorées pendant trente-six heures.

Méthode de Peter. — Les coupes sont colorées pendant une demi-heure dans une solution fraîche de violet de gentiane aniline. On les transporte dans 20 centimètres cubes d'alcool absolu pendant dix-huit heures, l'alcool étant renouvelé deux ou trois fois. Rincer dans l'eau distillée pendant une minute, et plonger pendant trois minutes dans une solution aqueuse de jaune d'aniline (jaune d'aniline 0,2 dissous dans eau distillée, 10; filtrer). Laver dans l'alcool absolu, éclaircir à l'essence de girofle et conserver dans le baume de Canada.

Méthode de Pfühl-Petri. — La solution colorante se compose de 10 centimètres cubes d'une solution alcoolique saturée de fuchsine ajoutée à 100 centimètres cubes d'eau. Faire flotter le couvre-objet pendant deux minutes dans une solution chauffée, jusqu'à dégagement de vapeurs. Laver pendant deux minutes dans l'acide acétique glacial, rincer dans l'eau, puis colorer en double dans une solution alcoolique ou aqueuse de vert de malachite, pendant une demi-minute ou une minute. Rincer ensuite

dans l'eau, sécher et examiner dans la glycérine, ou conserver dans le baume de Canada.

Méthode de Senkewitsch. — Colorer les préparations sur couvre-objet dans une solution concentrée de fuchsine. Quand elles sont fortement colorées, enlever la couleur pendant une ou deux minutes dans l'alcool acidulé, à raison d'une goutte d'acide nitrique par 10 centimètres cubes. Rincer dans l'eau ; sécher et monter dans le baume de Canada.

Méthode de Kaatzer. — Placer les préparations sur couvre-objets pendant vingt-quatre heures dans une solution alcoolique sursaturée de violet de gentiane ou pendant trois minutes, si on a chauffé à 80° C. ; décolorer dans une solution composée de :

Alcool à 90 p. 100	100 c c m.
Eau	20 —
Acide chlorhydrique fort . .	20 gouttes.

Rincer dans l'alcool à 90 p. 100 et colorer en double dans une solution aqueuse concentrée de vésuvine pendant deux minutes ; laver encore dans l'eau distillée, sécher et monter dans le baume de Canada.

Méthode d'Ehrlich et Eosine. — Crookshank a montré, que lorsque l'on a coloré les coupes avec le violet de méthyle et le brun de bismark par la méthode d'Ehrlich, d'après la marche décrite par Koch, on peut avec avantage les plonger dans une solution alcoolique faible d'éosine, rincer alors dans l'alcool

absolu pur, clarifier avec l'essence de girofle et monter dans le baume de Canada.

Les cellules géantes sont colorées en rose, tandis que leurs noyaux sont bruns et les bacilles bleus.

Procédé de Futterer. — Il colore d'abord avec la fuchsine suivant le procédé d'Ehrlich, puis il décolore par l'alcool acidulé (3 gouttes d'acide nitrique dans un verre de montre rempli d'alcool absolu) jusqu'à ce que la préparation devienne rose pâle. On continue la décoloration, dans une solution aqueuse de chlorure de palladium à 1 p. 500, pendant une minute. Enfin, on lave à l'eau distillée, on déshydrate pendant quelques minutes dans l'alcool acidulé, on passe à l'huile de cèdre et on monte dans le baume.

Les diverses matières où l'on pourra se proposer de rechercher le bacille tuberculeux sont les crachats, les épanchements de liquides dans les cavités naturelles (pleurésie, péritonite), le pus des abcès froids, l'urine, enfin, après la mort ou après une opération, l'épaisseur même des tissus.

Crachats. — Au point de vue clinique c'est surtout l'examen des crachats qui présente une grande importance, car il peut servir, dans un grand nombre de cas, à éclairer un diagnostic difficile ou douteux. Il faut avoir soin de choisir toujours les parties purulentes, seules riches en bacilles.

On recueille une parcelle de crachat, grosse comme une tête d'épingle avec une pince fine qu'on a eu le soin de chauffer préalablement à la lampe,

pour la stériliser et détruire les bacilles qui pourraient s'y trouver du fait d'un examen précédent : la substance supposée tuberculeuse est placée sur un couvre-objet, sur lequel on en applique un second en faisant glisser en tous sens de façon à bien étaler le crachat sur la plus grande surface possible. On sépare les lamelles et on les laisse sécher *spontanément* à l'air ; une fois la dessiccation obtenue, on saisit les lamelles avec une pince et on les passe, sans précipitation, trois fois dans la flamme d'un bec de Bunsen de façon à coaguler l'albumine ; on recommence une seconde série de deux lamelles de manière à avoir quatre préparations pour un même examen, de telle façon, que dans le cas où le nombre des bacilles serait faible, on ait plus de chance de les trouver. On place alors les lamelles dans le bain colorant suivant la méthode qu'on a choisie ; ces méthodes ayant été exposées tout au long, nous n'y reviendrons pas. Il faut en général de 12 à 24 heures pour être sûr que la coloration a produit tout son effet. Lorsqu'un premier examen a donné un résultat négatif, il faut en refaire plusieurs à quelques jours de distance et ne conclure à l'absence de tubercules que si les résultats sont restés nuls après plusieurs analyses successives.

Autres liquides. — La recherche des bactéries tuberculeuses dans les liquides autres que les crachats, ne diffère pas sensiblement de ce qu'elle est pour ceux-ci ; les mêmes méthodes générales leur sont applicables. Pour l'urine, on pourra la prendre directe-

ment dans la vessie par le cathétérisme ou bien on choisira l'urine émise à la fin de la miction. Le pus et l'urine seront étalés sur des lamelles de la même façon et étudiés par les mêmes méthodes.

Coupes de tissus. — Les organes dans lesquels on se propose de chercher les agents infectieux de la tuberculose, seront placés de préférence dans l'alcool fort qu'on renouvellera plusieurs fois. Le poumon, qui ne pourrait par cette méthode arriver à durcir suffisamment sera traité par les inclusions; celles à base de paraffine sont expéditives et donnent de bons résultats.

Les coupes devront être larges et aussi minces que possible ; les méthodes de coloration que nous avons indiquées leur sont toutes applicables; elles devront séjourner au moins 24 heures dans le bain colorant. Le procédé d'Ehrlich en double coloration est la méthode de choix.

Cultures du bacille tuberculeux.—C'est Koch, qui a le premier réussi à cultiver et à isoler le bacille de la tuberculose, en se servant de sérum sanguin gélatinisé. Les cultures de cette bactérie se font commodément, soit dans des tubes de sérum gélatinisé à surface inclinée, soit dans des petits godets de verre (planche II) où elles se font à plat et peuvent être examinées au microscope. Le meilleur milieu de culture est le sérum de sang de vache ou de mouton, avec ou sans addition de gélatine. (Voir page 291.) La température de prédilection pour ces bactéries oscille entre 37 et 38° C. Au-dessous ou au-dessus de cette tempé-

rature, le développement des colonies bactériennes se fait très lentement et même si l'on dépasse les limites extrêmes de 30 et 41° C., il s'arrête complètement. Si la culture est pure, pendant les premiers jours d'exposition à l'étuve, on ne voit rien apparaître sur les cultures, c'est généralement au bout de huit à dix jours que les premières colonies commencent à se développer. Si après trois ou quatre jours la gélatine, le sérum ou tout autre milieu nutritif commencent à se troubler, c'est qu'ils ont été inoculés avec des bactéries étrangères à celles que nous recherchons en ce moment.

Les colonies se montrent d'abord sous forme de petites écailles, de grains jaunâtres ou blanchâtres, formant des sortes de petites pellicules qui les distinguent nettement du sol voisin. Si avec une aiguille stérilisée on prend une parcelle de cette culture, on peut en faire une préparation sur couvre-objet, et s'assurer ainsi qu'on a obtenu le bacille tuberculeux avec ses propriétés morphologiques et ses réactions colorantes. Ces cultures ne forment pas habituellement une abondante prolifération, et elles restent limitées aux points où a porté l'inoculation, sans se réunir les unes aux autres.

Pour avoir une culture plus caractéristique et en quelque sorte normale, il faut ensemencer de nouveaux tubes de sérum gélatinisé avec quelques écailles provenant de ce premier essai; en recommençant encore une fois, on finit par obtenir le bacille tuberculeux à l'état de pureté et parfaitement isolé d'autres micro-organismes.

Les cultures de bactéries tuberculeuses ne liquéfient pas le sol de culture, et lorsque cette liquéfaction apparaît, elle est un indice certain de l'impureté plus ou moins grande de la culture; elles ne s'enfoncent même pas dans l'épaisseur du sérum, restent à sa surface et lui sont assez peu adhérentes, pour qu'en secouant un peu fortement, on puisse les détacher et les fragmenter.

Les colonies apparaissent sous formes de lignes flexueuses, à courbes élégantes simulant des arabesques se rapprochant généralement de la forme d'un S. Elles sont composées de bacilles dont le grand axe est disposé parallèlement à l'axe même de la colonie, et qui ne sont jamais assez serrés pour se toucher les uns les autres. Les jeunes colonies sont grêles, mais en grandissant elles tendent à se rapprocher par leurs bords.

La plupart du temps, au bout d'un mois, la culture devient stationnaire, son aspect ne change plus et il est nécessaire d'en faire un ensemencement nouveau dans un tube frais. Ces cultures successives ne paraissent pas modifier sensiblement la virulence du bacille tuberculeux, et l'inoculation aux animaux par les procédés que nous exposerons plus loin réussit à coup sûr avec ces cultures.

On a également tenté la culture du bacille tuberculeux sur les pommes de terre, mais les résultats obtenus ont été nuls; ce milieu ne paraît pas lui convenir, et il se développe de préférence sur les sols à base de sérum sanguin.

Nocard et Roux, ont montré qu'on peut facilement

cultiver le bacille de la tuberculose sur l'agar-agar glycériné dont ils ont donné la formule. C'est à ce milieu nutritif qu'on devra actuellement donner la préférence, étant donné que la préparation du sérum sanguin est toujours longue et fastidieuse. (Voir, pour la préparation de l'agar-agar à la glycérine, livre III, page 291.)

Tuberculose expérimentale. — Divers procédés sont en usage pour déterminer la tuberculose chez les animaux : on peut se servir de l'inoculation par diverses voies (œil, veines, tissu hypodermique, péritoine) ou bien de l'absorption par les voies naturelles respiratoires ou digestives. L'inoculation des produits tuberculeux ou présumés tels, présente une valeur de beaucoup supérieure à la recherche directe par les procédés histologiques : en effet, alors même que plusieurs examens de préparations ou de coupes sont restés infructueux, on peut affirmer la présence du bacille caractéristique, si l'inoculation amène le développement d'une forme quelconque de tuberculose, c'est là une véritable culture naturelle, très sensible, à laquelle on aura recours dans les cas douteux ou négatifs. Examinons d'abord les voies artificielles d'inoculation.

Inoculation dans la chambre antérieure de l'œil du lapin. — Cette méthode, préconisée par Connheim, est très ingénieuse et très instructive, car elle permet de suivre *de visu*, jour par jour, les progrès des lésions causées par l'inoculation. Cette inocula-

tion, comme toutes celles que nous allons indiquer, peut être faite indistinctement soit avec des produits tuberculeux directs, soit avec des cultures; ces dernières sont plus démonstratives parce qu'on est plus sûr de ne pas introduire de substances étrangères.

On prend la substance à inoculer, et on la dilue dans une petite quantité d'eau stérilisée; avec une seringue de Pravaz ou avec une aiguille d'acier soigneusement stérilisée, on en introduit une petite parcelle dans la chambre antérieure. Cette opération doit être faite avec de grandes précautions antiseptiques, car sans cela on pourrait voir se développer des inflammations diverses, qui viendraient gêner par leur présence l'observation et la rendre peu intéressante. Après une incubation de deux ou trois semaines, on voit apparaître sur l'iris de petits îlots grisâtres, qui ne sont autres que de petits tubercules miliaires : ces îlots tuberculeux vont en s'accroissant, et ils ne tardent pas à subir la dégénérescence caséeuse. Plus tard, les autres parties du globe de l'œil sont envahies par le processus tuberculeux, et il survient plusieurs accidents : ou bien la maladie se généralise et les animaux se cachectisent, ou bien l'envahissement des méninges et de l'encéphale amène des accidents aigus (convulsions, méningite, phlébite) qui font rapidement périr les sujets en expérience : cette terminaison aiguë est habituelle chez les cobayes. Mais tout à fait au début lorsque la partie antérieure de l'œil est seule atteinte, il est facile de recueillir un petit fragment des tubercules iriens, et on y trouve toujours les bacilles caractéristiques.

Inoculation sous la peau. — L'inoculation se fait avec une seringue de Pravaz chargée de matières tuberculeuses diluées dans un peu d'eau, pour les rendre plus liquides : le point de la peau choisi a peu d'importance.

On commence par raser la surface de la peau à l'endroit choisi (dos, aine, aisselle). On lave soigneusement et on pousse quelques gouttes du liquide dans le tissu cellulaire sous-cutané. Quatre ou cinq jours après l'inoculation on voit se développer *in loco* une tuméfaction douloureuse, variant comme grosseur depuis un grain de chènevis jusqu'à une noisette. Pendant quelque temps, ce tubercule reste local et l'animal ne paraît souffrir en aucune façon ; au bout de quinze jours à un mois, on voit les animaux maigrir, s'affaiblir, et finalement succomber dans le marasme. A l'autopsie, on constate le développement d'une masse caséeuse au point d'inoculation; les ganglions lymphatiques qui lui répondent, sont envahis par les nodules tuberculeux, quelquefois complètement caséifiés; tous les organes sont ordinairement envahis par les tubercules (poumon, foie, rate, reins, intestins, etc.). Ces tubercules existent à tous les degrés de leur évolution, depuis les granulations grises transparentes, jusqu'aux ulcérations et aux cavernes.

Injection dans les veines de l'oreille du lapin. — On devra réserver ce procédé pour les liquides provenant d'épanchements faits dans les séreuses, où la rareté des bacilles rendrait très laborieuse leur re-

cherche histologique, par exemple, le liquide des pleurésies.

Il ne sera guère applicable que pour des liquides clairs; car s'ils contenaient des particules solides un peu volumineuses, il y aurait formation d'embolies, qui pourraient faire périr les animaux avant que les résultats de l'inoculation puissent se montrer.

Injection dans la cavité du péritoine. — C'est le procédé le plus sûr pour l'inoculation des produits tuberculeux : il ne diffère en rien du procédé décrit au livre III, page 339, et nous y renvoyons le lecteur. Par ce procédé on développe une éruption miliaire du péritoine, du foie et de la rate; ordinairement le tube intestinal et les ganglions mésentériques sont intacts.

Le plus souvent, par tous ces procédés les poumons contiennent des lésions tuberculeuses; ceci s'explique facilement, lorsqu'on sait que les capillaires des poumons sont les plus petits de l'économie, et que par conséquent ils seront plus difficilement franchis par les corpuscules en suspension dans le liquide sanguin.

Ingestion par le tube digestif. — Chez les animaux bien portants, ce procédé n'est pas une méthode de choix, car l'action du suc gastrique détruit en grande partie l'activité virulente, et d'après Connheim, ce procédé d'inoculation même ne pourrait réussir qu'après avoir, par des ingestions successives provoqué un catarrhe stomacal qui permet au virus de

passer intact dans l'intestin. Chez les animaux inoculés par ce procédé, c'est dans l'intestin (cœcum, iléon) qu'on trouve les principales lésions. On peut faire ingérer directement les produits tuberculeux à la sonde, ou bien en imprégner les aliments, en les étalant par exemple sur des pommes de terre ou en arrosant le foin.

Inhalation. — Injection dans la trachée. — Lorsqu'on veut inoculer les animaux par le poumon, c'est un de ces deux procédés qu'on met en œuvre. L'inoculation par la trachée se fait avec la seringue de Pravaz en piquant l'organe au cou, et en poussant quelques gouttes de liquide.

Le procédé par inhalation, très instructif, car c'est celui qui se rapproche le plus de la contagion normale de la tuberculose pulmonaire, demande pour sa mise en œuvre quelques précautions ; car il faut que l'expérimentateur évite pour lui-même les chances de l'inoculation par les voies respiratoires. Pour cela, on place les animaux dans des boîtes où l'on pulvérise les produits tuberculeux en suspension dans l'eau.

Lorsqu'on aura ainsi pratiqué des inoculations, par un quelconque de ces procédés, on ne se contentera pas d'observer les lésions macroscopiques offertes par l'autopsie ; on devra y rechercher les bacilles caractéristiques, soit dans les substances caséeuses, soit dans des coupes des organes qu'on aura placés dans l'alcool fort. De plus, afin d'obtenir une certitude absolue, on aura recours à des inoculations successives

par le procédé primitivement choisi, afin d'avoir des inoculations en série, suite de cultures sur l'animal vivant.

Contagion chez l'homme. — Les expériences d'inoculation sur lesquelles nous venons d'insister, sont bien faites pour nous éclairer sur la façon dont se fait la contagion chez l'homme : il est facile de prévoir que l'inoculation des animaux à l'homme se fera surtout par l'alimentation, l'inoculation d'homme à homme surtout par les voies respiratoires.

L'inoculation par les voies digestives a surtout pour origine les substances alimentaires incomplètement stérilisées par la coction ; parmi elles on a surtout incriminé le lait provenant de vaches tuberculeuses dites vaches pommelières. Dans ce cas la cause de la contagion résiderait dans le fait que le lait n'a pas été bouilli. Cette opinion est corroborée par l'observation clinique qui montre la fréquence extrême de la tuberculose abdominale chez les jeunes enfants. Il ne faudrait pas croire cependant que la contagion ne puisse se faire par la mère ou la nourrice atteinte de tuberculose du sein.

La contagion par les voies respiratoires est certainement la plus fréquente. C'est ainsi qu'on la voit à chaque instant se produire entre mari et femme. Dans les salles d'hôpital, ce sont surtout les poussières desséchées des crachats de tuberculeux qui, voltigeant dans l'air, contribuent à la diffusion de la maladie. Il en résulte qu'un certain nombre de mesures prophylactiques devront être prises, pour empêcher la

contagion sur les gens de service et les autres malades ; ces mesures seront exposées à la fin de ce chapitre.

La voie cutanée peut être aussi une voie d'absorption du virus tuberculeux ; on observera cette forme sur les élèves en médecine, sur les gens chargés de nettoyer les vases et spécialement les crachoirs ayant servi aux tuberculeux. Cette voie est certainement la moins fréquemment suivie et dans ce mode d'inoculation la généralisation est plus lente.

On s'est demandé, si la vaccination variolique effectuée avec un vaccin provenant d'un individu atteint de phtisie ne pouvait pas contribuer à la diffusion de la tuberculose. Les expériences de Toussaint, Chauveau et Strauss ont permis de s'assurer que chez des tuberculeux revaccinés on ne trouvait pas de bacilles dans les pustules, et que le liquide vaccinal injecté aux animaux ne produisait pas la tuberculose.

Malgré ces expériences négatives, nous pensons qu'on devra être prudent et tenir pour suspect tout liquide vaccinal provenant d'un tuberculeux.

D'après Verneuil, l'inoculation pourrait également se faire par les voies génitales, et les rapports sexuels pourraient être un des modes d'inoculation de la maladie. Des faits certains d'observation confirment cette manière de voir.

Hérédité. — Nous n'avons pas ici, le caractère de ce livre étant éminemment pratique, à discuter théoriquement la nature de l'hérédité de la tuberculose et la question de savoir si l'enfant hérite de ses pa-

rents de la maladie elle-même, ou simplement d'une prédisposition à la gagner. C'est à l'observation seule qu'il appartient de juger. Voici en quelques lignes les faits qui permettent de croire à la transmission directe.

MM. Landouzy et H. Martin ont pris le fœtus d'une femme phtisique accouchée avant terme; l'enfant venu à 6 mois et demi vécut quelques heures. A l'œil nu, dans le poumon, on ne put constater de lésions tuberculeuses, mais un fragment de ce poumon inoculé à un cobaye, lui donna la tuberculose qu'on put réinoculer en série. Les auteurs ont répété ces expériences avec des fœtus sains en apparence d'animaux tuberculeux, et ont obtenu des résultats positifs. Malheureusement ces expériences sont fort incomplètes, car les auteurs n'ont pas recherché le bacille caractéristique, soit histologiquement, soit par la *culture in vitro*.

Jöhne de Dresde a fait cette recherche, et il a pu constater les faits suivants :

Une vache tuberculeuse est abattue, elle a dans l'utérus un fœtus de 8 mois; celui-ci a des lésions tuberculeuses du poumon et des ganglions bronchiques; le foie est parsemé de tubercules. L'auteur a cherché le bacille tuberculeux dans ces lésions, et a réussi à constater sa présence.

Lésions anatomiques de la tuberculose. — Répartition du bacille au sein de ces lésions. — Nous n'avons pas à faire ici une étude complète des lésions produites par la tuberculose dans les tissus,

nous renvoyons pour cela aux traités spéciaux d'anatomie pathologique; nous exposerons seulement ce qu'il est indispensable d'en savoir pour la compréhension de l'action pathogène de la bactérie tuberculeuse.

La tendance générale des anatomo-pathologistes, était depuis longtemps de rapprocher les granulations tuberculeuses des produits de nature inflammatoire; cependant on reconnaissait là une inflammation de nature spéciale, dont l'essence même échappait à l'analyse : les éléments du tubercule pouvaient se produire par divers agents irritants, et anatomiquement, cette néoplasie inflammatoire n'était pas autonome. La découverte du bacille de la tuberculose vint donner à la théorie inflammatoire un appui considérable, sa présence expliquait la forme spéciale revêtue par l'inflammation dans le tubercule.

La granulation tuberculeuse se développe uniquement dans les tissus vasculaires ou préalablement vascularisés : dans son état le plus simple (tubercules des séreuses, épiploon, mésentère, pie-mère), elle se présente sous la forme de petites cellules rondes, embryonnaires groupées autour d'un vaisseau ; ces cellules proviennent soit des globules blancs du sang par diapédèse, soit d'une prolifération cellulaire. Bientôt, on voit apparaître au milieu de cet amas cellulaire des vaisseaux de nouvelle formation, et à partir de ce moment, le tubercule peut prendre dans son évolution deux voies différentes : ou bien le tissu va s'organiser définitivement et prendre la forme

fibreuse, ou bien le processus va s'arrêter, puis subir une phase régressive, pour arriver à la transformation caséeuse.

Les tubercules adultes sont rarement solitaires; ils sont accompagnés d'autres granulations plus petites en voie d'évolution moins avancée : ils sont privés de vaisseaux et c'est là l'origine de la dégénération caséeuse.

Au centre des tubercules miliaires cités plus haut, on voit une ou plusieurs *cellules géantes*. La présence de ces cellules, on le sait, n'est pas non plus caractéristique du tubercule, et c'est un point de ressemblance de plus avec les produits inflammatoires : la cellule géante, en effet, se retrouve dans les gommes syphilitiques et dans les produits d'inflammation vulgaire. Elle peut avoir plusieurs origines : confluence des cellules lymphatiques (Connheim), cellules vaso-formatives (Malassez et Monod), confluence des cellules épithéliales glandulaires (Cornil), cellules endothéliales des séreuses et des vaisseaux. De toute façon, il est démontré que les cellules géantes peuvent se développer autour des corps étrangers les plus vulgaires. Les bactéries tuberculeuses agiraient donc comme un corps étranger d'une nature spéciale, et l'irritation qu'ils déterminent autour d'eux amène la formation d'une cellule géante.

Cette production (cellule géante) se présente sous l'aspect d'une masse assez volumineuse, située habituellement au centre de la granulation tuberculeuse, contenant plusieurs noyaux et des prolongements à sa périphérie qui semblent s'enfoncer dans la masse

des cellules embryonnaires. Lorsqu'on étudie ces cellules géantes pendant leur développement, on y voit se produire des figures de karyokinèse (Cornil). C'est par elles que commence la dégénérescence caséeuse.

Il est facile ordinairement d'apercevoir les bactéries spécifiques dans les lésions tuberculeuses : elles siègent toujours dans les cellules géantes en nombre plus ou moins grand, et lorsqu'elles sont nombreuses, on en voit aussi entre les cellules embryonnaires qui les entourent.

Tuberculose des méninges. — Lorsqu'après avoir fait durcir dans l'alcool la méninge tuberculeuse et le tissu cérébral sous-jacent, on y pratique des coupes perpendiculaires à la surface, on constate la présence des bacilles dans la paroi des vaisseaux et dans les coagulations fibrineuses siégeant dans leur intérieur. Les mêmes lésions peuvent être facilement constatées dans la tuberculose des grandes séreuses et dans la tuberculose aiguë : cette dernière forme de la maladie, lorsqu'elle n'est pas primitive, reconnait probablement le processus suivant : en un point quelconque de l'économie, un tubercule s'est ouvert dans une veine ou un vaisseau lymphatique et y a déversé son contenu. On conçoit par ce procédé une diffusion rapide et généralisée des bacilles, qui vont s'implanter dans les divers organes avec rapidité, entraînés qu'ils sont par le courant sanguin.

Les liquides épanchés dans les séreuses, se prêtent

mal à la recherche histologique du bacille, et il est préférable pour établir sa présence de procéder à des inoculations. MM. Gombault et Chauffard ont pu ainsi provoquer l'apparition de la tuberculose par l'injection de liquides provenant de pleurésies d'apparence légitime. Les cultures sur le sérum gélatinisé trouvent ici encore leur application.

Tumeurs blanches. — Dans ces lésions, la recherche du bacille tuberculeux donne lieu à des résultats inconstants ; tantôt l'on en trouve, tantôt ils sont très rares, tantôt on n'en trouve pas malgré le nombre relativement élevé des cellules géantes que l'on rencontre dans les fongosités articulaires. Cornil sur cinq cas de tumeur blanche du genou et de la hanche n'a pu constater que deux fois la présence des micro-organismes. Nicaise, Poulet et Vaillard ont constaté la présence des bacilles tuberculeux dans des kystes et des synovites à grains riziformes, rattachant ainsi à la tuberculose ces lésions de nature jusque-là inconnue.

Ganglions lymphatiques. Rate. — Toutes les fois qu'une lésion tuberculeuse a envahi un organe, il est de règle de voir les ganglions auxquels se rendent les lymphatiques de cet organe également atteints par la tuberculose.

Les ganglions péri-bronchiques et mésentériques, dans la tuberculose pulmonaire et intestinale, contiennent presque toujours des bacilles, surtout nombreux dans la substance corticale du ganglion. Il n'en

est plus de même pour les ganglions primitivement engorgés chez les scrofuleux par exemple ; dans ces cas la présence des bacilles constitue l'exception. Chez l'homme, les tubercules de la rate sont liés habituellement à la tuberculose aiguë ; les bacilles y sont peu confluents ; chez les animaux, la tuberculose expérimentale de la rate succède habituellement à l'inoculation intra-péritonéale.

Muqueuses. — Dans les muqueuses, l'inoculation des bactéries peut se faire à la surface même de l'épithélium ou par la voie des vaisseaux. Dans le premier cas les bacilles détruisent l'épithélium, s'infiltrent dans les interstices de ses cellules et finissent par constituer une ulcération qui va se creusant ; lorsque c'est par la voie vasculaire qu'arrivent les bacilles, dans les tuberculoses secondaires par exemple, il se forme une granulation dans la profondeur ; elle se caséifie et vient s'ouvrir à la surface. Dans ces deux cas on retrouve facilement de nombreux bacilles.

Poumon. — Dans la tuberculose miliaire du poumon, c'est dans les caillots intra-vasculaires et dans la paroi même des vaisseaux qu'on rencontre les bacilles en plus grand nombre. Les cavernes tuberculeuses sont, d'une manière générale, les lésions dans lesquelles on trouve le plus de bacilles ; on les trouve dans la paroi de la caverne (Planche VII, 2), le plus souvent près de la surface, mais ils existent en grande quantité également dans les produits expectorés provenant de la désagrégation et de la sécrétion de la

caverne. Aussi est-ce dans les crachats de tuberculeux porteurs de cavernes (Planche VII, 1) qu'on en rencontre la plus grande quantité. Dans certains cas beaucoup plus rares, on ne trouve dans les cavernes qu'un petit nombre de bacilles, mais il est exceptionnel que cette recherche soit entièrement négative.

Dans la pneumonie caséeuse, rangée depuis les travaux de Grancher parmi les lésions tuberculeuses, la présence des bacilles n'est pas constante, mais on peut la constater dans la plupart des cas au milieu des détritus caséifiés.

Dans les vieux tubercules de guérison, les bacilles sont loin d'être abondants ; on en rencontre cependant quelquefois en petit nombre. Déjerine en a trouvé dans des tubercules calcifiés.

Organes génito-urinaires. — Dans le rein, les bacilles n'existent que dans les granulations tuberculeuses de petit volume; dès que la caséification devient un peu étendue ils deviennent très rares et on ne les trouve habituellement pas. Durand-Fardel a montré qu'on pouvait en découvrir le long des vaisseaux de l'organe dans les glomérules, en des points où l'on ne voyait pas trace de granulations tuberculeuses. Dans les organes génitaux tuberculeux de l'homme, la présence des bacilles est l'exception, et ils sont toujours en petit nombre.

Tuberculose zoogléique de Malassez et Vignal. — D'après Malassez et Vignal, il existerait une autre forme de tuberculose caractérisée non plus par le

bacille de Koch, mais par la présence de masses de microcoques réunis sous forme de zooglées. Afin de pouvoir apprécier les résultats des expériences de ces



FIG. 152. — Manière de couper les pommes de terre destinées aux cultures.

auteurs, il est nécessaire d'entrer dans quelques détails sur les faits qu'ils rapportent.

Ils avaient inoculé à un groupe de cobayes de la matière caséeuse provenant d'un tubercule cutané pris chez un enfant mort de méningite tuberculeuse ;

ces premières inoculations furent suivies d'autres semblables de façon à obtenir des séries. Voici quelles furent les lésions observées : quelques jours après l'inoculation, il se développe au niveau de la piqûre de petits nodules qui grossissent, se ramollissent et se vident ; bientôt après ils se cicatrisent spontanément; en même temps on voit apparaître dans d'autres organes des granulations isolées, ou confluentes et plus ou moins caséifiées. Ces lésions rappellent à l'œil nu les lésions de la tuberculose ; elles en diffèrent cependant essentiellement au point de vue clinique, par la bénignité au point d'inoculation et la généralisation très rapide.

Dans ces granulations qu'ils considèrent comme tuberculeuses, Malassez et Vignal au lieu du bacille caractéristique de Koch, ont constaté la présence de masses zoogléiques formées de microcoques légèrement oblongs de 1 μ de longueur, sur 0μ,3 d'épaisseur; dans la zooglée, ils sont souvent disposés bout à bout comme s'ils dérivaient de plusieurs bacilles placés côte à côte, et qui se seraient ensuite sectionnés en plusieurs tronçons.

Les procédés de coloration usités pour le bacille de Koch ne sont pas applicables à ces zooglées qui se colorent très difficilement. Voici la méthode par laquelle on réussit à les colorer :

Coloration des zooglées de la tuberculose de Malassez et Vignal. — C'est par le bleu de méthylène que Malassez et Vignal ont réussi à colorer leurs zooglées. Ils y arrivent par l'un des deux procédés suivants ;

A. — On laisse pendant un jour les coupes dans un bain ainsi préparé :

Eau distillée saturée d'huile d'aniline et filtrée	9 c. c.
Solution concentrée de bleu de méthylène dans l'alcool à 90°	1 c. c.

On décolore ensuite dans le mélange suivant :

Solution aqueuse de carbonate de soude à 2 p. 100	2 volumes.
Alcool absolu.	1 —

Cette opération délicate doit être surveillée en portant les préparations sous le microscope afin de l'arrêter à propos. On laisse ensuite les pièces un certain temps dans l'eau distillée ; après quoi, on les déshydrate rapidement par l'alcool absolu et l'essence de girofle et on les monte dans le baume.

B. — On place les coupes dans le bain suivant :

Solution de carbonate de soude à 2 p. 100	10 volumes.
Eau distillée saturée d'huile d'aniline	5 —
Alcool absolu	3 —
Solution de bleu de méthylène faite avec 9 volumes d'eau distillée et un volume de solution concentrée de bleu de méthylène dans l'alcool à 90°	3 —

Ce mélange bleu clair devient verdâtre et donne un précipité au bout de quelque temps ; mais il n'en est pas moins bon ; il suffit de le filtrer. Les coupes

restent dans ce bain deux ou trois jours. Elles sont ensuite mises dans l'eau distillée, puis dans l'alcool absolu légèrement teinté avec du bleu de méthylène ; on les éclaircit avec de l'essence de bergamote ou de térébenthine, et on monte dans le baume ou dans la résine Dammar dissoute dans le chloroforme.

Cette tuberculose zoogléique ne se perpétua pas, et à la quatrième série d'inoculations chez les cochons d'Inde, les auteurs ont trouvé les bacilles vulgaires de la tuberculose. A-t-on eu affaire ici à une forme véritable de tuberculose ? Nous ne le pensons pas. Il est fort probable que dans le liquide primitivement inoculé, il existait, comme c'est la règle en pareil cas, d'autres bactéries ; celles-ci ont produit des embolies microbiennes, suivies de lésions nécrosiques des tissus, lésions localisées à de petits vaisseaux, ce qui leur donnait le cachet extérieur de la tuberculose. En somme la forme zoogléique de la tuberculose ne serait qu'une septicémie embolique, produite par des bactéries totalement étrangères à la tuberculose. Cette manière de voir est d'ailleurs pleinement confirmée par les observations et les recherches d'Eberth et de Cornil.

Le caractère de cet ouvrage étant essentiellement pratique, nous omettons à dessein de parler des tuberculoses locales et des affections qu'on a rapprochées de cette maladie, telles que le lupus, sur lesquelles nous ne pourrions que répéter ce que nous venons d'exposer assez longuement, ne voulant pas discuter ici la nature de ces affections.

Tuberculose chez les animaux. — Toutes les espèces animales ne sont pas exposées au développement spontané de la tuberculose; elle est très fréquente chez les bovidés et chez les gallinacés; rare chez le lapin, la tuberculose spontanée est exceptionnelle chez les cochons d'Inde et on ne la rencontre jamais ou presque jamais dans les races canines.

Bovidés. — La tuberculose des bœufs et des vaches est fort commune, et la connaissance de ce fait intéresse au plus haut point les médecins et les hygiénistes; en effet, l'alimentation est, nous l'avons vu, une porte d'entrée naturelle à la contagion chez l'homme, et c'est certainement contre ce mode d'infection que nous pouvons le mieux nous défendre. Chez les vaches, la tuberculose affecte une marche d'une grande lenteur, et malgré une phtisie souvent avancée, on voit ces animaux continuer à fournir de grandes quantités de lait.

Chez les individus frappés par la maladie (vache pommelière), les lésions atteignent le poumon et surtout les ganglions bronchiques, qui deviennent volumineux au point d'atteindre quelquefois un poids de plusieurs kilogrammes. La mammite tuberculeuse de la vache est fréquente, et le lait contient toujours des bacilles dans ce cas : son ingestion détermine la tuberculose chez les animaux qui l'absorbent, et c'est là sans doute la cause la plus répandue de contagion par l'espèce bovine, car la viande contient peu de lésions tuberculeuses et la coction arrive le plus souvent à la stériliser. Les lésions histologiques de la

vache pommelière sont les mêmes que chez l'homme, et Koch a démontré qu'elles contenaient des bacilles tuberculeux identiques à ceux de la tuberculose humaine.

Gallinacés. — Chez ces oiseaux, les lésions tuberculeuses siègent le plus souvent dans les organes abdominaux (foie, rate, péritoine). Sur les coupes de ces tubercules colorées par le procédé d'Ehrlich, on peut constater un grand nombre de bacilles. Ceux-ci sont un peu plus longs que ceux de l'homme, mais leur nature est identique. Inoculés à des lapins et à des cobayes, ils leur donnent la tuberculose ; et Nocard a constaté d'une façon certaine la contagion de l'homme aux poules, dans une basse-cour où ces animaux picoraient les crachats d'un homme tuberculeux chargé de les soigner. Le même auteur a cultivé ces bacilles sur du sérum de sang de cheval, et avec ces cultures il a inoculé la tuberculose à des lapins, à des cobayes et des chevreaux.

Thérapeutique et prophylaxie. — Nous avons vu par quelles voies (pulmonaire et digestive) se fait habituellement la contagion de la tuberculose chez l'homme. Empêcher la pénétration des germes par ces deux portes d'absorption, doit être le but de l'hygiéniste. Il est difficile d'empêcher les germes contenus dans l'air de pénétrer dans les poumons ; mais, comme ces germes ont presque tous la même origine, les crachats desséchés et réduits en poussière, il est possible de les diminuer dans une

certaine mesure, au moins en ce qui concerne les salles d'hôpital. La stérilisation par les antiseptiques (sublimé, acide phénique) est toujours fort imparfaite, et l'on aura recours à la chaleur. Les linges, les crachoirs, seront passés pendant un quart d'heure dans l'eau bouillante ou dans la vapeur d'eau surchauffée de façon à tuer tous les bacilles.

L'isolement des tuberculeux serait une excellente mesure prophylactique, elle est malheureusement à peu près inapplicable en dehors du milieu hospitalier.

Les inspecteurs de la boucherie aux abattoirs et dans les marchés, devront sévèrement proscrire toute viande tuberculeuse ; et dans les ménages, il sera de toute utilité de ne pas consommer de lait qui n'ait été préalablement porté à l'ébullition pendant quelques minutes.

Nous ne dirons rien de toutes les méthodes qui s'adressent à la destruction du bacille chez l'individu vivant ; peut-être pourra-t-on un jour en obtenir d'heureux résultats, mais jusqu'ici ils ont été à peu près nuls.

CHAPITRE XIII

LA LÈPRE

La lèpre est une maladie fort rare en France à l'époque actuelle, mais elle a autrefois fait beaucoup de ravages ; la pratique de l'isolement des lépreux au moyen âge a en grande partie supprimé la maladie, qui n'existe plus guère que sur quelques points du littoral de la Méditerranée (Espagne, Italie, Constantinople.)

On distingue deux formes de lèpre : la lèpre tuberculeuse et la lèpre anesthésique ; ces deux modes peuvent se combiner pour donner une forme mixte.

Dans la lèpre *tuberculeuse* il se forme sur la face, sur les mains et sur les pieds, ainsi que sur les muqueuses de la bouche, du voile du palais et du pharynx, des plaques ou tubercules saillants auxquels ne tardent pas à succéder des ulcérations plus ou moins profondes.

La lèpre *anesthésique* est caractérisée par des taches ressemblant à du vitiligo : ces plaques sont insensibles. Plus tard la peau s'atrophie en quelque sorte, il se fait des fissures et des ulcérations, qui

peuvent être assez profondes pour déterminer la chute de phalanges ou de presque tout un doigt, sorte d'amputation spontanée.

La contagion de la lèpre se fait difficilement, et on peut dire qu'elle est un fait presque exceptionnel ; cependant il y a des cas non douteux, où cette contagion a pu être observée avec évidence.

Les lésions de la lèpre sont causées par un bacille qui a été signalé pour la première fois, en 1868, par Hansen ; il a été étudié depuis par Neisser, Gaucher, Cornil, Leloir, etc...

Observés à l'état frais, les bacilles de la lèpre sont mobiles, ce qui suffit pour les distinguer de ceux de la tuberculose auxquels ils ressemblent beaucoup (planche VIII). Outre leur mobilité, ils présentent encore des différences notables avec le bacille de la tuberculose ; c'est ainsi que tandis que le bacille tuberculeux est presque toujours arqué, le bacille de la lèpre est au contraire tout à fait rectiligne. Au lieu de présenter des espaces clairs, il possède souvent au niveau des points les plus colorés de véritables nouures. Ces micro-organismes possèdent une capsule qui n'est pas toujours facilement visible. Ils paraissent posséder des spores.

Leur longueur est de 4 à 6 μ et leur largeur atteint rarement 1 μ. Ils se colorent beaucoup plus facilement que les bacilles de la tuberculose et on peut en avoir en quelques instants de bonnes préparations.

Les bacilles sont dans les lésions lépreuses d'une abondance extrême, et dans un cas qu'il nous a été récemment donné d'observer, sur une préparation

faite avec une gouttelette de liquide prise au niveau des lésions au moyen d'une aiguille, c'est par milliers qu'on pouvait les voir dans le champ du microscope, et par véritables paquets en certains points. Gaucher les a trouvés dans le sang ; on les voit souvent remplir absolument les cellules en se substituant absolument au protoplasma.

Coloration des lamelles. — On peut employer pour les colorer le procédé d'Ehrlich qui réussit très bien, mais la coloration se fait bien plus vite qu'avec les bacilles tuberculeux ; Baumgarten pour arriver à les distinguer du bacille de la tuberculose recommande le procédé suivant :

Mettre les lamelles pendant cinq à six minutes dans la solution de fuchsine (cinq gouttes de solution alcoolique de fuchsine dans un verre de montre rempli d'eau distillée). On décolore pendant quelques secondes dans

Acide nitrique . . .	1
Alcool	10

On lave à l'eau et on colore le fond au bleu de méthylène. Après une coloration aussi courte, les bacilles tuberculeux restent incolores.

Les bacilles de la lèpre ne doivent pas être montés dans le baume au chloroforme ou à l'essence ; il faut se servir de baume sec ou de baume absolument pur dissous dans le xylol, sans quoi ils se décolorent très rapidement.

Coloration dans les coupes. — Le procédé de Baumgarten peut encore servir, en laissant les coupes un quart d'heure dans le bain colorant (solution hydro-alcoolique de fuchsine exempte d'huile d'aniline), décolorer ensuite dans l'alcool azotique pendant une demi-minute, laver à l'eau, déshydrater, éclaircir et monter au baume.

D'après Lustgarten on peut distinguer les bacilles de la lèpre de ceux de la tuberculose par une solution d'hypochlorite de soude à 1 p. 100 qui décolore les bacilles tuberculeux, et laisse intacts ceux de la lèpre.

Mais dans les cas ordinaires, lorsqu'il n'y a pas à distinguer les deux bactéries l'une de l'autre c'est encore la méthode d'Ehrlich, telle qu'elle est employée pour la tuberculose, et sans y rien changer, qui donnera les meilleurs résultats. Ces préparations se conservent difficilement, et il arrive un moment où les bactéries finissent par se décolorer.

Les bacilles de la lèpre ont pu être cultivés sur le sérum de sang et l'extrait de viande alcalin à 37° et 38° centigrades (Neisser).

Les inoculations du bacille de la lèpre sont restées jusqu'ici sans résultats ; un médecin de la Norwège se l'est inoculé à lui-même et ensuite à une série de vingt hommes sains sans aucun résultat. Jusqu'à présent, toutes les inoculations aux animaux sont restées infructueuses : Müller et Orthmann croient y être parvenus récemment en inoculant de la matière lépreuse dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin, mais il est possible qu'ils n'aient inoculé que la tuberculose.

CHAPITRE XIV

LA DIPHTÉRIE

Ce sont surtout les études de Klebs et de Loëffler qui ont contribué à faire connaître les micro-organismes de cette maladie ; les recherches antérieures n'avaient pas beaucoup fait avancer la question, car presque tous les auteurs décrivaient comme spécifiques, des mycéliums ou des spores de leptothrix ou de l'oïdium existant normalement dans la bouche, et qui trouvaient sur l'exsudat un terrain propice à leur développement.

Ce qui caractérise essentiellement la diphtérie, c'est la formation de fausses membranes, résultant d'une infiltration fibrineuse suivie de mortification du derme muqueux ; cette fausse membrane est grisâtre, plus ou moins épaisse, plus adhérente aux muqueuses à épithélium pavimenteux qu'à celles à épithélium cylindrique, et elle jouit de la propriété de se reformer rapidement, lorsqu'on l'a détachée. En général, la maladie est d'abord locale et peut rester telle ; mais elle se généralise souvent et se manifeste par diffé-

rents symptômes d'ordre essentiellement infectieux. Nous en avons assez dit sur toutes ces particularités connues de tous les médecins.

C'est dans cette fausse membrane que l'on trouve les bactéries pathogènes sous forme de micrococcus en chaînettes ou en amas zoogléiques. Klebs avait en outre signalé de petits bâtonnets ; mais la communication facile avec les liquides buccaux et l'air atmosphérique, rendait presque impossible la détermination du rôle pathogénique de toutes ces bactéries. Les recherches de Loëffler ont montré que les fausses membranes diphtéritiques contiennent deux bactéries : des micrococcus en chaînettes et des bacilles.

Les bactéries en chaînettes se cultivent facilement sur la gélatine-peptone ; l'inoculation faite aux animaux avec ces cultures ne reproduit pas la diphtérie. Ces chaînettes paraissent n'être autre chose que le streptococcus pyogenes de Rosenbach. (Voir page 429.) Les bacilles sont difficiles à isoler sur la gélatine ; il faut commencer par cultiver des paquets de fausses membranes sur du sérum gélatinisé. Sur ce sol nutritif, les colonies des micrococcus se distinguent facilement de celles des bacilles, il est alors facile d'isoler ces dernières. On peut les ensemencer sur des tubes à gélatine, où ils se développent à une température de 20 à 22° centigrades.

Les bâtonnets ainsi obtenus sont immobiles, et se colorent facilement avec une solution aqueuse de bleu de méthylène ; ils ressemblent beaucoup aux bacilles de la tuberculose, mais ils sont moins grêles et d'ailleurs ne produisent pas la tuberculose par

inoculation. Les cultures portées à une température de 60° centigrades deviennent stériles.

D'après Loëffler en cultivant les bacilles de la diphtérie à 22° sur la gélatine, on voit apparaître des formes d'involution de l'organisme sous forme de bouteilles : c'est là sans doute une erreur d'observation, car si on pousse la culture plus loin on voit apparaître une spore au niveau des tuméfactions. La bactérie prend alors la forme en tête que nous avons déjà rencontrée plusieurs fois et principalement à propos de la fermentation butyrique et du charbon symptomatique. La spore reste incolore par les colorations ordinaires; mais le bacille sporulé peut subir la double coloration par le procédé de Bienstock (v. page 202) ou celui d'Ehrlich. Ces spores peuvent sans périr supporter une température de 100° centigrades. Cultivées sur le sérum, elles reproduisent le bacille trouvé dans les fausses membranes.

Loëffler a pratiqué des inoculations avec ce bacille et voici les résultats obtenus : si on fait l'inoculation sur une muqueuse saine, il ne se produit rien; si au contraire on dépose le bacille sur une muqueuse enflammée, ou au niveau d'une solution de continuité, il y a production d'une exsudation membraneuse et hémorragique; peut-être pourrait-on trouver dans ce fait l'explication de la présence constante du streptococcus signalée plus haut, qui aurait pour effet d'enflammer la muqueuse, et de la rendre propre à recevoir le bacille spécifique, mais ce n'est là qu'une hypothèse.

Si, comme Loëffler l'a fait, on pratique des inocu-

lations sur la conjonctive des lapins, ou sur la trachée après la trachéotomie, on provoque le développement de fausses membranes où l'on retrouve des bacilles identiques : souvent les animaux succombent. En tout cas on ne trouve jamais dans le sang des animaux, ni dans les viscères les bacilles des fausses membranes fibrineuses ; il y a lieu de penser alors que les phénomènes généraux de la diphtérie sont dus à une intoxication par un poison (ptomaïne ?) sécrété par les bactéries. Malgré toute l'autorité de ces expériences, on doit à la vérité de dire que les mêmes bactéries ont été trouvées dans la bouche d'enfants en parfaite santé.

D'après Darier on trouve dans la broncho-pneumonie qui vient compliquer la diphtérie des microbes analogues à ceux des fausses membranes savoir :

1° Des bactéries semblables à celles de Klebs et de Loëffler ;

2° Des micrococcus analogues aux bactéries pyogènes et pneumoniques.

Les bactéries décrites par Klebs et Loëffler ne sont pas morphologiquement distinctes de beaucoup d'autres espèces assez vulgaires, et on ne doit les accepter comme agents infectieux de la diphtérie qu'après avoir formulé toutes sortes de réserves.

La diphtérie des oiseaux ressemble beaucoup à celle de l'homme quant aux caractères des bactéries qu'on y trouve, cependant elle en diffère notablement, car elle ne paraît pas, jusqu'ici du moins être contagieuse pour l'espèce humaine.

Dans la diphtérie du veau, affection inconnue en

France, mais assez commune en Allemagne, Loëffler a décrit des bactéries moins longues que celles du charbon, mais s'unissant en filaments ondulés et formant des touffes épaisses.

CHAPITRE XV

LA SYPHILIS

La syphilis est un type de maladie virulente et contagieuse, et il n'est pas douteux qu'elle ne soit sous la dépendance d'un parasite spécifique ; aussi nombre d'auteurs se sont-ils efforcés d'isoler ce dernier, mais, jusqu'à présent, l'incertitude règne encore sur ce point.

Klebs a trouvé dans le liquide qui s'écoule d'un chancre incisé, des bâtonnets mobiles qu'il a cultivés sur gélatine et qu'il a inoculés à des singes. A l'autopsie des singes on trouva dans le crâne et dans divers viscères (poumon, rein) des masses caséeuses ressemblant à des gommes, mais il est possible que ces caséifications soient simplement dues à la tuberculose, qui, on le sait, emporte presque fatalement les singes amenés dans nos climats.

Aufrecht et Birsch-Hirschfeld ont trouvé dans les productions syphilitiques des amas de micrococcus et de bâtonnets, isolés ou contenus dans les cellules. En 1882, Martineau et Hamonic ont cultivé des frag-

ments de chancres; ils ont inoculé un singe avec ces cultures et celui-ci eut des éruptions analogues à celles de la syphilis, après avoir présenté des accidents primitifs en tous points comparables au chancre; il n'est cependant pas prouvé qu'ils aient donné la syphilis à leur singe, ce n'était peut-être qu'une forme de septicémie.

Faut-il accorder plus de crédit aux micro-organismes décrits par Lustgarten? D'après cet auteur, les produits syphilitiques renferment des bâtonnets, qui offrent une grande ressemblance avec ceux de la lèpre et de la tuberculose; ils ont 3 à 4 μ de long sur 0 μ, 8 de large. On voit dans leur intérieur des points incolores qui sont peut-être des spores. Les bacilles sont toujours inclus dans des cellules nucléées que Lustgarten considère comme des cellules migratrices.

D'après Alvarez et Tavel, le bacille décrit par Lustgarten ne diffère pas d'un bacille qu'on trouve communément dans le smegma préputial; cependant la conclusion de ces deux auteurs est trop absolue, et Cornil admet que les deux bacilles sont différents; en effet, le bacille d'Alvarez, et Tavel se colore par le procédé d'Ehrlich, ce qui n'a pas lieu pour le bacille de Lustgarten; de plus, ce dernier a rencontré son bacille sur des coupes de lésions éloignées et qui n'avaient aucun rapport avec le smegma préputial (gommes viscérales). Lustgarten n'a pas réussi à cultiver son bacille.

Les bacilles de Lustgarten ne se colorent pas par les méthodes habituelles, voici les procédés de coloration qu'il faut employer:

Méthode de Lustgarten. — Elle consiste à combiner l'action oxydante du permanganate de potasse avec les propriétés réductrices de l'acide sulfureux. Des lamelles sont faites avec les liquides à examiner, mais la couche étalée doit être épaisse et le verre couvreur passé dans la flamme *une fois seulement*.

On les place ensuite de douze à vingt-quatre heures dans le bain suivant :

Solution alcoolique de violet de gentiane	11
Eau d'aniline.	100

Après ce temps, on porte le bain colorant avec les préparations à l'étuve où on le laisse deux heures à 50°. On lave dans l'eau distillée (jamais dans l'alcool) et on trempe pendant dix secondes dans une solution de permanganate de potasse à un et demi pour cent, on plonge ensuite un instant dans une solution concentrée et pure d'acide sulfureux. On devra préparer cette solution soi-même, au moment de s'en servir, pour l'avoir toujours fraîche ; il ne reste plus qu'à monter les préparations. Il est prudent pour ne pas trop décolorer de faire l'opération en plusieurs fois, et de ne pas décolorer tout d'un coup.

Pour les coupes on se sert du même procédé, il n'y a qu'une différence, c'est qu'avant de faire agir le permanganate de potasse, on les laisse quelques minutes dans l'alcool.

Procédé de Giacomi. — On place les lamelles dans un bain obtenu avec trois ou quatre gouttes de solution alcoolique de violet de gentiane ou de fuchsine

dans un verre de montre rempli d'eau distillée, qu'on chauffe jusqu'à l'ébullition. On lave dans :

Perchlorure de fer liquide	3 gouttes.
Eau distillée.	50 grammes.

On décolore dans une solution concentrée de perchlorure de fer, on lave de nouveau dans la solution faible, on dessèche et on monte dans le baume au xylol. Pour les coupes, on les laisse vingt-quatre heures dans une solution de fuchsine ou de violet à l'eau d'aniline ; on lave, et on décolore dans une solution faible de perchlorure de fer.

CHAPITRE XVI

LA BLENNORRHAGIE. — LE GONOCOCCUS

Historique. — Ricord, malgré le caractère éminemment contagieux de la blennorrhagie, pensait qu'elle n'était qu'une inflammation simple de l'urèthre et, guidé par cette idée, il avait donné une recette humoristique pour la contracter à coup sûr.

Donné a le premier signalé la présence de parasites dans le pus blennorrhagique, tels que le *vibrio lineola* et le *trichomonas*, mais il leur attribuait peu d'influence pathogène.

Jousseaume attribue la maladie à une algue à longs filaments qu'il appelle *genitalia*.

La première description du gonococcus appartient sans contredit à Hallier d'Iéna, qui s'exprime ainsi : « Le pus de la blennorrhagie contient une grande quantité de coccus, en partie libres, en partie contenus dans l'intérieur des globules, dans lesquels ils produisent des vacuoles, et qu'ils détruisent ensuite complètement. Des corpuscules analogues se retrouvent dans le sang des individus affectés de rhumatisme blennorrhagique. Ils pénètrent dans les globules sanguins. »

Malgré ces travaux et ceux de Bouchard en 1878, la découverte du microbe de la blennorrhagie est réellement l'œuvre de Neisser, assistant à la clinique de Breslau.

Récemment, le gonococcus a été étudié par notre ami le docteur Crivelli, surtout en ce qui concerne la culture et l'inoculation, et les conséquences pratiques qu'on peut en déduire.

Morphologie du gonococcus. — Examiné à l'état frais, le gonococcus se présente sous l'aspect d'un petit point arrondi, réfringent, mobile; on trouve rarement ces microbes isolés; le plus souvent, ils forment de petits amas, mais ne sont jamais disposés en chaînettes; leur diamètre oscille entre 0 μ, 2 et 0 μ, 4; ils siègent tantôt dans les cellules du pus ou dans les cellules épithéliales, tantôt en dehors où ils forment de petits amas (Planche VIII).

Recherche et coloration du gonococcus. — Si on prend une goutte de pus blennorrhagique à l'orifice de l'urèthre, il est rare que la préparation ne contienne pas plusieurs espèces de micro-organismes. Pour avoir le gonococcus pur, il faut avoir la précaution de faire uriner le malade au préalable; on recueille le pus au moyen d'une pipette flambée et introduite assez profondément dans l'urèthre des malades présentant de préférence des blennorrhagies aiguës datant de quelques jours, et n'ayant pas encore été traitées. Ce pus séché sur des lamelles est coloré avec le liquide d'Ehrlich au violet de gentiane ou à la fuchsine. On monte ensuite les préparations dans le

baume au xylol, après leur avoir fait subir les manipulations habituelles (lavages et déshydratation). Les micro-organismes apparaissent avec des contours très nets, surtout si c'est du pus de blennorrhagie aiguë : on les trouve souvent groupés, par deux en huit de chiffre. S'ils sont ainsi groupés, ils se correspondent par des surfaces nettement aplaties, et il est souvent facile de constater une capsule autour de chaque diplococcus.

Chez la femme il est rare d'obtenir le gonococcus isolé : en prenant avec une pipette stérilisée du pus des écoulements vaginaux, on y trouve habituellement d'autres bactéries, mais en certains points de la préparation (fig. 15) on retrouve le gonococcus typique, ne différant d'ailleurs en rien de ce qu'il est chez l'homme.

Culture du gonococcus et inoculations. — Jusqu'ici les cultures et les inoculations n'ont pas donné de résultats véritablement concluants, et nous nous contenterons d'exposer les tentatives faites dans cet ordre d'idées.

Neisser, Leistikow, Krause, Loëffler prétendent avoir réussi à obtenir des cultures pures par les procédés de Koch, mais les inoculations faites avec ces cultures, sont restées infructueuses sur la muqueuse de l'urèthre et de la conjonctive des animaux (singes, chiens, chats, lapins, pigeons, souris). Sur un malade dont l'œil était atteint de pannus, M. Bouchard a obtenu un résultat négatif.

Bokai et Finkelstein inoculèrent les premiers des

cultures de gonococcus dans l'urèthre de l'homme; l'inoculation fut faite à six étudiants en médecine, trois



FIG. 153. — Gonococcus avec deux cellules épithéliales du vagin dans une vaginite infectieuse.
Objectif à immersion homogène n° 10 (Nachet). Oculaire 3.

d'entre eux contractèrent la blennorrhagie, les trois autres, inoculés avec une culture contenant une substance antiseptique, restèrent indemnes.

Bockardt cite une seule expérience faite sur un paralytique général presque mourant, auquel il injecta une seringue de Pravaz chargée d'une culture sur gélatine à la quatrième génération. Le malade aurait contracté une blennorrhagie typique, mais il mourut quelques jours après d'une néphrite suppurée du rein droit.

Sternberg a constaté, que les micrococcus du pus blennorrhagique se développaient rapidement dans un bouillon de culture, en donnant au liquide une teinte

laiteuse, qui disparaît par le dépôt des corpuscules au fond du vase, quand la prolifération s'arrête faute de nourriture. Les éléments se reproduisaient sous la même forme par des cultures successives ; mais ces liquides injectés sous la peau d'un lapin, mis en contact avec l'urèthre, le vagin, la conjonctive des chiens et des lapins ne donnent absolument rien; enfin ce liquide de culture inoculé même à des hommes de bonne volonté ne donne rien non plus. M. le docteur Constantin Paul a tenté des cultures, avec du pus blennorrhagique pris chez une jeune fille, dans du bouillon de veau stérilisé. Il inocula une goutte de la cinquième culture à l'entrée de l'urèthre d'une femme n'ayant jamais eu d'affection vénérienne; le sixième jour la malade accusa une cuisson assez vive à l'entrée de l'urèthre et de la sensibilité en urinant, avec écoulement d'un pus séro-fibrineux empesant le linge. Cette inflammation n'a duré que vingt-quatre heures ; le lendemain tout avait disparu.

MM. Cornil et Babès n'ont pu réussir à produire des cultures pures du microbe.

Bümm et Oppenheimer ont réussi à cultiver le gonococcus sur le sérum gélatinisé : le premier de ces auteurs aurait réussi par l'inoculation de ses cultures à conférer une blennorrhagie typique.

Crivelli a tenté également des cultures du gonococcus. Le milieu le plus favorable à son développement est un bouillon à l'extrait de viande solidifié avec l'agar-agar. On prépare ce bouillon en mélangeant dix parties d'extrait de viande Liebig, huit parties de peptone et cent parties d'eau avec une petite quantité

de chlorure de sodium et de phosphate de soude : le bouillon étant complètement neutralisé, on ajoute l'agar-agar et on place à l'étuve à une température de 30 à 35 degrés. Au bout de trois ou quatre heures après la piqûre d'inoculation la substance est troublée et liquéfiée à la surface, et pas du tout dans la profondeur ; les micrococcus de la blennorrhagie seraient donc aérobies.

D'après Crivelli, les micrococcus du pus blennorrhagique présentent dans les cultures deux aspects différents. Dans les premières heures ces micrococcus se mettent en petites chaînettes, qui se groupent entre elles pour former une sorte d'étoile, qui se voit bien surtout de la troisième à la sixième heure.

Dès le lendemain tout cela a complètement disparu, on ne trouve plus que des granulations sphériques isolées ou réunies deux à deux.

Les limites de température entre lesquelles les cultures réussissent sont de 30 à 35 degrés ; au-dessous et au-dessus de ces chiffres l'agar-agar ne se trouble pas, ou les cultures deviennent impuissantes. Il suffit d'une heure à une heure et demie pour qu'une culture exposée à 48 ou 50° perde la force de se développer.

Dans les cultures, les coccus peuvent supporter la dessiccation pendant plusieurs semaines sans que leur vitalité soit anéantie.

Les inoculations pratiquées sur les animaux avec ces cultures sont restées négatives.

En résumé, ces travaux montrent que s'il est probable que la blennorrhagie est causée par un microbe

pathogène, on ne peut affirmer, dans l'état actuel de la science, que le gonococcus soit ce microbe.

Physiologie et contagion naturelle. — Le gonococcus existe à l'état de nature dans toutes les suppurations blennorrhagiques, on le trouve également dans les inflammations secondaires des synoviales articulaires, dans les inflammations oculaires.

Tandis que nous voyons les animaux absolument rebelles à cette inoculation, nous constatons qu'elle se fait dans l'espèce humaine avec une déplorable facilité. La contagion se fait d'urèthre à urèthre par les rapports sexuels ; dans l'ophtalmie blennorrhagique, la contagion se fait surtout par le transport opéré soit par les mains, soit par les linges. On rencontre le gonococcus dans l'ophtalmie purulente des nouveau-nés. Dans ces conditions, l'inoculation s'est faite pendant l'accouchement, la femme étant atteinte antérieurement d'un écoulement blennorrhagique.

En général, les différentes solutions antiseptiques retardent plus ou moins le développement du gonococcus, mais les sels de mercure tiennent la première place avec le nitrate d'argent. Les solutions de nitrate d'argent à 1/2 p. 100 et de sublimé à 1/1000 empêchent et arrêtent complètement le développement du microbe. Cette notion présente une grande importance pour le traitement de la maladie.

Les substances antiseptiques employées dès le début de la maladie, associées cependant aux balsamiques, nous semblent être encore le meilleur mode de traitement.

CHAPITRE XVII

LA RAGE

Nous serons très brefs sur cette question qui n'appartient pas en propre à la bactériologie, puisque jusqu'ici on n'a pas trouvé un microbe spécifique de cette terrible maladie; il importe cependant d'en dire quelques mots et d'exposer les quelques notions qui ont été acquises, pour ne pas être taxé d'oubli ou d'indifférence sur une question qui soulève des controverses si passionnées.

La rage ne se développe jamais spontanément chez l'homme, elle est toujours inoculée, et dans l'immense majorité des cas, c'est par une morsure sur les parties découvertes (face, main) que se fait l'inoculation : les animaux qui peuvent communiquer la rage à l'homme sont surtout le chien, le loup, le chat, peut-être le rat et certains herbivores. Lorsque la rage est déclarée, elle se termine par la mort, après une série de symptômes sur lesquels nous ne pouvons insister ici.

A l'autopsie d'un individu mort de la rage, on ne trouve pas de lésions visibles à l'œil nu, et nous verrons plus loin que l'existence d'un microbe est loin d'être prouvée ; aussi le seul critérium certain de

la rage est-il l'inoculation des centres nerveux à un autre chien suivant la méthode de Pasteur.

Virus de la rage. — Pasteur, Chamberland et Roux ont cherché longtemps à isoler les bactéries de la rage sans y parvenir ; cependant Pasteur avait cru voir dans le cerveau de petits corps arrondis se colorant mal par les couleurs d'aniline, il ne voulut pas tirer de conclusions de cette observation.

Gibier a décrit dans sa thèse ces bactéries se montrant sous forme de granulations très réfringentes, ressemblant à des microcoques ; elles ne se colorent pas bien par les couleurs d'aniline, et l'auteur n'a pu les cultiver.

Babès a trouvé dans le cerveau et la moelle rabiques un microbe rond de 0,5 à 0,8 μ, qu'il a pu cultiver sur le sérum à 37° centigrades et sur la gélatine additionnée de bouillon de cerveau de lapin. La troisième génération de culture pure inoculée aux animaux, leur donnait la rage. Ce microbe se colore bien par la méthode de Gram, à condition de laisser la lamelle longtemps en contact avec la substance colorante; ces bactéries seraient beaucoup moins nombreuses que celles représentées par Gibier.

Quoi qu'il en soit, Pasteur a démontré que le virus de la rage, qu'il soit ou non bactérien, siégeait dans les centres nerveux (cerveau, bulbe, moelle) et que le moyen infaillible de déterminer la rage expérimentale, consistait à inoculer une dilution de cerveau enragé à la surface du cerveau d'un autre animal, après trépanation.

Expériences. — Pour les chiens, Pasteur les attache et les anesthésie au chloroforme, puis il enlève au niveau du lobe frontal une rondelle de crâne avec une couronne de trépan, et il injecte sous la dure-mère, un fragment de substance cérébrale rabique broyé dans de l'eau ou du bouillon stérilisé, à l'aide d'une seringue de Pravaz à aiguille courbée.

Pour les lapins, on les anesthésie en mettant sous leur nez un peu de papier buvard arrosé de chloroforme; on fait une incision à la peau, on trépane et on fait l'injection de la même façon que pour les chiens. Gibier s'est servi d'un procédé différent qui a déjà été décrit (page 339).

La rage n'est pas transmissible de l'homme à l'homme, ni de l'homme aux animaux; si en effet, on inocule un lapin avec de la salive d'homme enragé, l'animal meurt, non pas de la rage, mais d'une septicémie. D'après Gibier, les oiseaux pourraient contracter la rage, mais guériraient spontanément. Pasteur a observé que lorsqu'on pratique sur des lapins des inoculations en série du virus rabique, la puissance virulente allait toujours en croissant; et tandis que la durée d'incubation est normalement chez cet animal, de quinze jours, on peut en continuant la série arriver à inoculer une rage qui se manifeste du sixième au septième jour. Chez le singe, un phénomène inverse se produit, et l'inoculation en série amène une diminution progressive de la virulence.

Ces faits furent le point de départ des recherches sur l'atténuation du virus rabique, et Pasteur put rendre une série de chiens réfractaires à la rage ; il

a depuis, perfectionné sa méthode et actuellement l'atténuation du virus rabique se pratique en suspendant dans l'air parfaitement desséché par la potasse, des moelles de lapins morts de rage, après sept jours d'incubation.

Pour préserver les chiens de la rage, on leur inocule sous la peau une pleine seringue de Pravaz, de bouillon stérilisé, dans lequel on a délayé un petit fragment d'une moelle ayant au moins dix jours de dessiccation qui n'est plus virulente; les jours suivants on opère de la même façon avec des moelles plus récentes et on arrive ainsi jusqu'aux moelles les plus virulentes. Les chiens deviennent alors réfractaires à la rage par morsure et à la rage inoculée.

On sait que Pasteur a tenté sur l'homme des inoculations antirabiques; cette expérience actuellement faite sur un grand nombre de sujets, a soulevé les discussions et les controverses les plus passionnées; comme cette question ne touche pas à la bactériologie proprement dite, mais plutôt à la doctrine médicale générale, nous nous abstiendrons d'en parler. En effet, pour qu'on puisse adopter sans réserve les faits avancés par Pasteur, il faudra la consécration du temps, et si d'autre part on voulait combattre ses conclusions, il faudrait que les contradicteurs instituassent une série d'expériences qui soient en opposition formelle avec les siennes. Le véritable esprit scientifique doit également se garder des enthousiasmes naïfs et des dénigrements jaloux et injustifiés.

CHAPITRE XVIII

L'INFECTION PALUDÉENNE

La fièvre intermittente qui se développe sous l'influence des émanations des marécages, présente tous les caractères d'une affection parasitaire, et bien des observateurs se sont efforcés de découvrir l'agent infectieux, sans que leurs efforts soient couronnés de succès. L'organisme infectieux de la malaria ne se comporte pas, à proprement parler, comme une bactérie, et les auteurs qui ont étudié la question l'ont considéré soit comme une algue, soit comme une oscillariée, soit comme un infusoire, ou la spore de quelque cryptogame.

En 1879, Klebs et Tommasi Crudeli, n'arrivant à aucun résultat par la recherche directe sur les malades, se mirent en devoir d'analyser l'air, l'eau et le sol d'une région où la malaria sévit avec intensité, la Campagne Romaine.

Dans leurs cultures, ils ont vu se développer des bacilles, des spores et des filaments; d'après ces auteurs, les agents infectieux seraient des bâtonnets de 2 à 7 μ de long, s'allongeant en filaments qui se seg-

mentent en articles plus courts, pouvant donner naissance à une spore située au centre ou à une extrémité du bâtonnet : les filaments peuvent aussi entrer en sporulation dans toute leur longueur.

L'inoculation de ces cultures aux lapins leur donne d'après Klebs et Tommasi Crudeli, une fièvre semblable à la fièvre intermittente. Il est permis de douter de la valeur de ces inoculations, car dans les pays infestés par la malaria, les animaux ne prennent jamais de maladie ressemblant aux fièvres palustres.

En 1880, Tommasi Crudeli avait retrouvé dans la



FIG. 154. — Parasites de l'infection paludéenne, d'après Laveran. Corps n° 1.

rate des fiévreux, une spore qui, cultivée, reproduit les bacilles observés par Klebs et Tommasi Crudeli. Cuboni et Marchiafava ont répété avec succès les recherches de Klebs et Tommasi Crudeli.

Les recherches de M. Laveran ont été faites dans une toute autre direction, et cet auteur a recherché les parasites dans le sang lui-même. D'après Laveran, le parasite se présente sous trois formes distinctes qu'il a désignées sous le nom de corps kystiques n°s 1, 2, 3.

Corps n° 1. Ou en croissant (fig. 155). — Eléments allongés en forme de croissant, effilés à leurs extré-

mités, quelquefois de forme ovale; ils sont incolores, transparents, avec une tache à la partie moyenne, tache constituée par des granulations qui paraissent de nature pigmentaire. Leur longueur est de 8 à 9 μ et leur largeur de 3 μ. Sur les formes en croissant, on voit souvent une sorte de ligne courbée en sens inverse du corpuscule et qui relie les deux extrémités du croissant; ils ne sont pas doués de mouvements et les modifications de forme se font d'une façon insensible.

Corps n° 2. Sphériques (fig. 156). — Ces corps se présentent tantôt à l'état de repos, tantôt à l'état de mouvement.

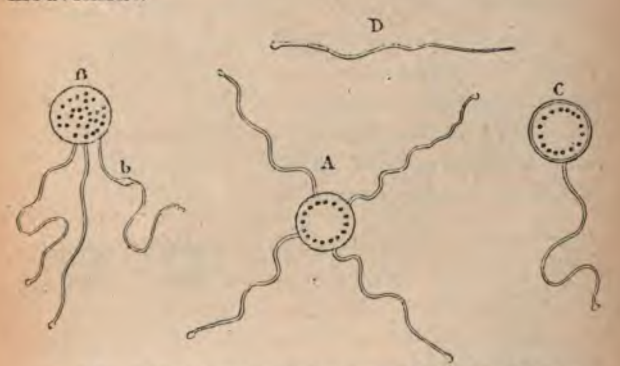


FIG. 155. — Parasites de l'infection paludéenne, d'après Laveran, Corps n° 2.

A l'état de repos, ils sont sphériques, transparents, d'un diamètre de 6 μ environ; dans leur intérieur se trouvent des granulations pigmentaires rondes d'égal volume, disposées en couronne et simulant un collier

de perles noires ; cette disposition régulière se voit surtout dans les gros corpuscules. Ces éléments peuvent se montrer à l'intérieur des globules rouges.

Lorsque ces corpuscules sont maintenus à une température voisine de celle du corps humain, on voit de leur surface partir des filaments transparents, très mobiles, ressemblant à une anguille, adhérents au corpuscule par une extrémité ; à leur extrémité libre, ces prolongements filamenteux possèdent une sorte de petit renflement en bouton ; ces filaments peuvent se détacher et devenir libres en continuant à être animés de mouvements. La longueur de ces prolongements est d'environ trois ou quatre fois le diamètre d'un globule rouge, leur nombre varie de trois à quatre par corpuscule et ils présentent divers groupements. Quand les filaments s'agitent, le corps subit une sorte d'oscillation, pendant laquelle les granulations intérieures sont animées de mouvements, qui dérangent l'ordre suivant lequel elles sont placées.



FIG. 156. — Parasites de l'infection paludéenne, d'après Laveran. Corps n° 3.

Ces divers phénomènes rapprochent ces corpuscules des amibes ou des oscillariées.

Corps n° 3 (fig. 157). — Ils sont en général sphériques, plus gros que les corps n° 2, ils ont de 8 à

10 μ ; ils sont immobiles, remplis de granulations pigmentaires qui sont le plus souvent disposées sans régularité.

Outre ces trois ordres de corpuscules on trouve des



FIG. 157. — Hémoplasmodies dans les globules sanguins, d'après Marchiafava et Celli.

granulations pigmentaires libres, rouges feu ou bleu clair.

Laveran n'a jamais pu cultiver ni inoculer ces corps ; il considère néanmoins les corps nos 1 et 2 et surtout les filaments mobiles qui se détachent du n° 2 comme les parasites de la malaria.

En tout cas ces parasites ne sont pas des bactéries, car ils ne se colorent pas avec les couleurs d'aniline, et ne se divisent jamais en articles. Ils seraient bien plutôt des protozoaires, peut-être des amibes dont ils se rapprochent par leurs mouvements et leurs expansions en forme de pseudopodes. Pour les apercevoir, il faut traiter le sang par une solution d'acide osmique à 1/300, et conserver dans la glycérine picro-carminée ; il est difficile de garder longtemps ces préparations.

Marchiafava et Celli ont retrouvé dans le sang des paludéens les corpuscules de Laveran ; ils ont réussi à communiquer à l'homme sain, par une injection intra-veineuse de 1 gramme de sang des fébricitants la malaria avec les lésions caractéristiques du sang. D'après ces derniers auteurs les parasites sont souvent renfermés dans les globules rouges du sang, ils leur ont donné le nom de plasmodies ou hémoplasmodies (fig. 158).

Dans l'intérieur des plasmodies se voient de nombreuses granulations pigmentaires ; ces corpuscules sont animés de mouvements amiboïdes. Ce sont eux qui provoquent la dégénérescence pigmentaire du globule rouge, qui se fait aux dépens de l'hémoglobine.

Quoi qu'il en soit de tous ces travaux, nous devons retenir ces deux propositions : La fièvre palustre est

inoculable ; on ne connaît pas jusqu'ici de bactérie spécifique de la malaria, et il est probable que le parasite de cette affection est un protozoaire du genre des amibes.

CHAPITRE XIX

MALADIES DIVERSES D'ORIGINE BACTÉRIENNE

La fièvre jaune. — La fièvre jaune affecte, à n'en pas douter, les allures d'une maladie microbienne, cependant ce n'est là qu'une hypothèse, et la bactérie qui la détermine est encore à découvrir.

Plusieurs auteurs ont cru avoir trouvé les parasites de la fièvre jaune.

M. Lacerda a trouvé dans la bile, le foie, les vomissements, le cerveau, un champignon microscopique.

M. Carmoña y Valle a décrit un microbe de la fièvre jaune qu'il appelle *peronospora lutea*.

M. Domingos Freire en a trouvé un autre, qu'il nomme *cryptococcus xanthogenicus*. Ces publications n'ont rencontré que l'incrédulité, n'étant pas de nature à provoquer la conviction.

M. Freire n'a pas coloré son microbe, et la représentation qu'il en donne peut tout aussi bien s'appliquer à des granulations quelconques.

Babès, dans le foie et le rein d'un cas de fièvre jaune, a trouvé des filaments bactériens composés

de grains elliptiques se colorant bien par les couleurs d'aniline.

Depuis, Cornil et Babès ont examiné plusieurs pièces provenant d'individus morts de fièvre jaune, sans pouvoir dans aucune retrouver ces bactéries.

La question de la nature microbienne de la fièvre jaune n'est donc nullement résolue, et s'il existe un micro-organisme de la fièvre jaune, on ne l'a encore ni isolé, ni cultivé, et d'ailleurs les expériences faites au Brésil, par MM. Domingos Freire et Rebourgeon, ne sont pas de celles qui entraînent la conviction; ces messieurs, avec lesquels nous nous sommes trouvés fortuitement en rapport, nous avaient promis de nous donner des pièces de fièvre jaune et de nous montrer cultures et préparations, nous ne les avons pas revus et certes à notre grand regret, car nous eussions été heureux de pouvoir donner ici une description et un dessin du microbe, et contribuer par là à dissiper les incertitudes de cette question.

Le microbe incriminé par MM. Domingos Freire et Rebourgeon est un micrococcus mobile (?) et se colorant par les couleurs d'aniline.

L'inoculation d'une culture aux lapins et aux cobayes leur communique une maladie identique à la fièvre jaune.

Les cultures s'atténuent spontanément en huit ou dix jours : M. Domingos Freire a eu l'idée de transformer cette culture atténuée en vaccin, en l'inoculant aux hommes exposés à prendre la fièvre jaune.

D'après les statistiques publiées par les auteurs dans une note à l'Institut, les résultats de leur pro-

cédé de vaccination seraient des plus brillants, car à Rio-de-Janeiro sur 1,675 cas de décès par fièvre jaune il n'y avait que huit vaccinés : la mortalité était chez les non vaccinés de 1 p. 100 et chez les vaccinés de 1 p. 1000.

Dysenterie. — Tout porte à croire que la dysenterie se développe sous l'influence d'une bactérie ; mais il n'a pas été jusqu'ici fait de travaux spéciaux, en vue de démontrer la réalité de cette hypothèse. Quelques auteurs ont décrit des bactéries trouvées dans les lésions intestinales, mais certes les microbes ne manquent pas dans le tube digestif, et là, plus que partout ailleurs, la recherche d'une bactérie spécifique est difficile.

Radjenski a décrit des micrococcus et des bâtonnets dans l'exsudat dysentérique.

Koch a également trouvé de nombreuses bactéries dans les selles des dysentériques qu'il a observés en Egypte.

Babès a vu à la surface des lésions intestinales de grands microbes elliptiques de 0 µ, 8 à 1 µ de diamètre et des bacilles pâles et fins. Le même auteur a signalé des chapelets de microcoques, de longs bâtonnets et des spirilles. Mais tout cela n'a rien de caractéristique, ces bactéries ne sont probablement que des microbes vulgaires de l'intestin et en somme les connaissances bactériologiques en ce qui concerne la dysenterie sont à peu près nulles.

Morve. — Jusqu'en 1840 les vétérinaires ont nié la contagion de la morve et c'est Bouley qui est arrivé à la faire admettre.

Hallier a trouvé dans les sinus frontaux et le larynx des micrococci isolés ou en amas.

Chauveau, par la filtration, montre que l'activité du virus morveux réside dans les particules en suspension.

Babès, en 1881, décrit les microbes de la morve dans les ulcérations, les os et les sécrétions morveuses. Loëffler et Schutz, MM. Bouchard, Capitan et Charrin ont en même temps fait connaître l'agent infectieux de la morve. Ces derniers ont inoculé le produit de la huitième culture à deux ânes qui, tous deux, moururent avec des lésions morveuses. Semblable résultat a été obtenu sur les cobayes avec les produits de la morve humaine.

Les bacilles de la morve se colorent facilement avec le bleu de méthylène ; ils ont de 1 à 5 μ de long et 0 μ, 4 de large.

Pour colorer les coupes de tissus, Babès a indiqué le procédé suivant : laisser les coupes vingt-quatre heures dans la fuchsine d'Ehrlich à la température de 40°, décolorer par l'acide acétique faible, par l'alcool et monter dans le baume.

Les cultures se font bien sur le sérum gélatinisé, sur les pommes de terre entières ou en purée.

La fièvre récurrente. — La fièvre récurrente ou typhus à rechutes ne s'observe pas à Paris. On la voit surtout dans les pays misérables, principalement en Irlande, dans le nord de l'Allemagne, en Russie et en Pologne. Otto Obermeier a le premier trouvé et décrit les spirilles de la fièvre récurrente en 1873. Cohn les a

nommés *spirochaetes*, car ils diffèrent en effet des spirilles par leur flexibilité et la vivacité de leurs mouvements. Ces micro-organismes se montrent dans le sang des malades pendant l'accès de fièvre, ou peu de temps auparavant.

Ce sont des filaments (fig. 38), ondulés, très longs, très mobiles, mesurant depuis 1 μ et demi jusqu'à 36 et 40 μ : ils existent en très grand nombre pendant l'accès et une seule goutte de sang en renferme beaucoup; à 60° ils sont tués.

Koch les a cultivés, la culture se présente sous l'aspect de faisceaux comme des cheveux. On ne leur connaît pas de spores, et les inoculations faites avec eux sont restées négatives.

La diarrhée verte des petits enfants. — En 1884, M. le professeur Damaschino et M. Clado, son interne, communiquaient à la Société de biologie, un travail sur les bactéries de la diarrhée infantile.

Les bacilles sont très abondants chez les enfants atteints de diarrhée verte, tandis qu'ils disparaissent chez ceux qui guérissent au moment où les selles reprennent leur couleur jaune.

M. le professeur Hayem et M. Lesage ont repris cette étude; ils ont démontré que ce bacille était bien la cause de la diarrhée verte, car il reproduit la maladie par son introduction dans les voies digestives.

La coloration verte est due à une substance colorante sécrétée par le microbe.

Le bacille pénètre dans le tube digestif avec les aliments, à l'état normal il est détruit par le suc gastri-

que, mais si, comme il est si fréquent chez les enfants, une alimentation défectueuse a provoqué de la dyspepsie, le microbe passe dans l'intestin et provoque la diarrhée infantile.

Les considérations physiologiques ont conduit MM. Hayem et Lesage à une thérapeutique rationnelle de l'affection qui consiste à combattre le parasite par les acides du suc gastrique.

Après avoir essayé l'acide chlorhydrique, les auteurs se sont arrêtés à l'acide lactique. En joignant l'usage de ce médicament à des mesures hygiéniques rigoureuses, on arrive à guérir rapidement la maladie et à la supprimer des crèches où elle règne presque à l'état endémique.

La culture du bacille de la diarrhée verte se fait très facilement sur la gélatine peptone, à laquelle il communique une belle teinte verte.

Les fièvres éruptives. — Les fièvres éruptives qui présentent de véritables types de maladies infectieuses, sont loin d'être connues au point de vue de la nature de l'agent infectieux ; aucune des bactéries spécifiques ou supposées telles dans ces affections n'a encore été isolée et cultivée.

1° *Rougeole*. En 1875, Klebs a décrit des monadines morbilleuses, mais il ne les a pas cultivées.

En 1880, Babès a le premier décrit les micrococci de la rougeole.

Le sang au niveau de l'éruption, la sécrétion catarrhale du nez et des bronches, contiennent des cor-

puscules ronds, isolés ou deux à deux en huit, rarement en courts chapelets.

Ces microcoques se trouvent surtout en grande abondance dans les lésions pneumoniques qui compliquent souvent la rougeole.

On peut voir facilement les micro-organismes, en colorant au violet de méthyle les produits de sécrétion qu'on trouve dans les alvéoles pulmonaires. En cultivant ces microbes, on obtient un streptococcus analogue à celui de la suppuration.

Cornil a observé dans un cas des quantités de petits bacilles à côté des microbes ronds.

M. Le Bel a observé dans l'urine des rougeoleux de petits bâtonnets légèrement courbés et animés de mouvements. Ils possèdent à un moment donné une spore vers le tiers de chaque bâtonnet. Cette bactérie ne se voit guère que pendant les premiers jours de la maladie, et disparaît pour se montrer de nouveau au moment de la desquamation.

Aucune inoculation n'a été faite jusqu'ici de ces divers microbes, et on ne doit accepter jusqu'à nouvel ordre leur rôle pathogène que sous toutes réserves.

2° *Scarlatine.* — On sait encore moins sur la scarlatine que sur la rougeole au point de vue des microbes. Pohl a trouvé des microcoques un peu plus petits que ceux de la rougeole (0 μ, 5) sur le voile du palais et sur les produits de desquamation.

Dans l'urine des scarlatineux, on a trouvé une bactérie en huit lorsqu'il y a de la néphrite albumineuse.

Cornil a examiné des coupes de peau au niveau de l'exanthème, sans y découvrir de bactéries.

3° *Variole*. — Dans les boutons de la variole on trouve des microcoques isolés ou agglomérés que l'on voit très facilement par coloration avec l'hématoxyline ou mieux avec le violet de méthyle ; ce microcoque se retrouve dans la muqueuse du larynx, dans le foie et dans le rein où il produit des néphrites graves.

4° *Vaccine*. — Les microbes de la variole ne diffèrent en rien de ceux qu'on trouve dans les pustules vaccinales ; c'est Chauveau qui observa le premier, en filtrant le liquide vaccinal, que son activité était due, non au liquide, mais aux particules solides en suspension. Les travaux ultérieurs montrèrent que ces particules solides étaient des microbes (Cohn, Weigert).

Jusqu'à présent, toutes les tentatives de culture et de fabrication artificielle du vaccin ont complètement échoué.

TABLE ALPHABÉTIQUE

A

B

C

D

E

I

K

L

M

nommés *spirochaetes*, car ils diffèrent en effet des spirilles par leur flexibilité et la vivacité de leurs mouvements. Ces micro-organismes se montrent dans le sang des malades pendant l'accès de fièvre, ou peu de temps auparavant.

Ce sont des filaments (fig. 38), ondulés, très longs, très mobiles, mesurant depuis 1 μ et demi jusqu'à 36 et 40 μ : ils existent en très grand nombre pendant l'accès et une seule goutte de sang en renferme beaucoup ; à 60° ils sont tués.

Koch les a cultivés, la culture se présente sous l'aspect de faisceaux comme des cheveux. On ne leur connaît pas de spores, et les inoculations faites avec eux sont restées négatives.

La diarrhée verte des petits enfants. — En 1884, M. le professeur Damaschino et M. Clado, son interne, communiquaient à la Société de biologie, un travail sur les bactéries de la diarrhée infantile.

Les bacilles sont très abondants chez les enfants atteints de diarrhée verte, tandis qu'ils disparaissent chez ceux qui guérissent au moment où les selles reprennent leur couleur jaune.

M. le professeur Hayem et M. Lesage ont repris cette étude ; ils ont démontré que ce bacille était bien la cause de la diarrhée verte, car il reproduit la maladie par son introduction dans les voies digestives.

La coloration verte est due à une substance colorante sécrétée par le microbe.

Le bacille pénètre dans le tube digestif avec les aliments, à l'état normal il est détruit par le suc gastri-

que, mais si, comme il est si fréquent chez les enfants, une alimentation défectueuse a provoqué de la dyspepsie, le microbe passe dans l'intestin et provoque la diarrhée infantile.

Les considérations physiologiques ont conduit MM. Hayem et Lesage à une thérapeutique rationnelle de l'affection qui consiste à combattre le parasite par les acides du suc gastrique.

Après avoir essayé l'acide chlorhydrique, les auteurs se sont arrêtés à l'acide lactique. En joignant l'usage de ce médicament à des mesures hygiéniques rigoureuses, on arrive à guérir rapidement la maladie et à la supprimer des crèches où elle règne presque à l'état endémique.

La culture du bacille de la diarrhée verte se fait très facilement sur la gélatine peptone, à laquelle il communique une belle teinte verte.

Les fièvres éruptives. — Les fièvres éruptives qui présentent de véritables types de maladies infectieuses, sont loin d'être connues au point de vue de la nature de l'agent infectieux ; aucune des bactéries spécifiques ou supposées telles dans ces affections n'a encore été isolée et cultivée.

1° *Rougeole.* En 1875, Klebs a décrit des monadines morbilleuses, mais il ne les a pas cultivées.

En 1880, Babès a le premier décrit les micrococci de la rougeole.

Le sang au niveau de l'éruption, la sécrétion catarrhale du nez et des bronches, contiennent des cor-

T

V



TABLE DES FIGURES

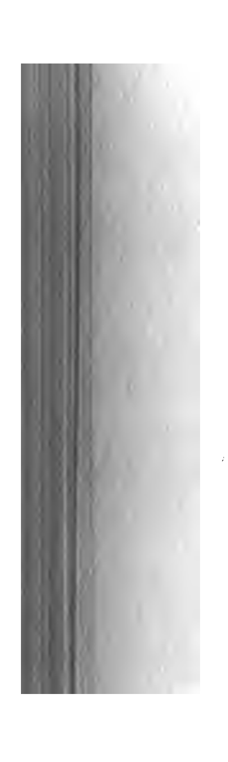


TABLE DES MATIÈRES

LIVRE QUATRIÈME

MALADIES CAUSÉES PAR LES BACTÉRIES

ÉVREUX, IMPRIMERIE DE CHARLES HÉRISSEY





PLANCHE I

1. — **Micrococcus prodigiosus.** — Culture au troisième jour à 35° sur l'agar à la glycérine.

2. — **Staphylococcus pyogenes aureus** provenant du pus d'une ostéomyélite aiguë. Cultivé à 35° sur agar-agar.



H.D E.O

1. Micrococcus Prodigiosus
2. Staphylococcus pyogènes aureus

PLANCHE II

1. — **Micrococcus prodigiosus** sur pomme d terre.

2. — **Culture pure du bacille tuberculeux** au douzième jour à 37° sur sérum gélatinisé.

II

Manuel de Microbiologie — O. Doin. Editeur



H. Dubief ad nat. — Imp. Monrocq Paris — E. Oberlin lith.

1. Micrococcus prodigiosus sur pomme de terre
2. Tuberculose sur Sérum gelatinisé

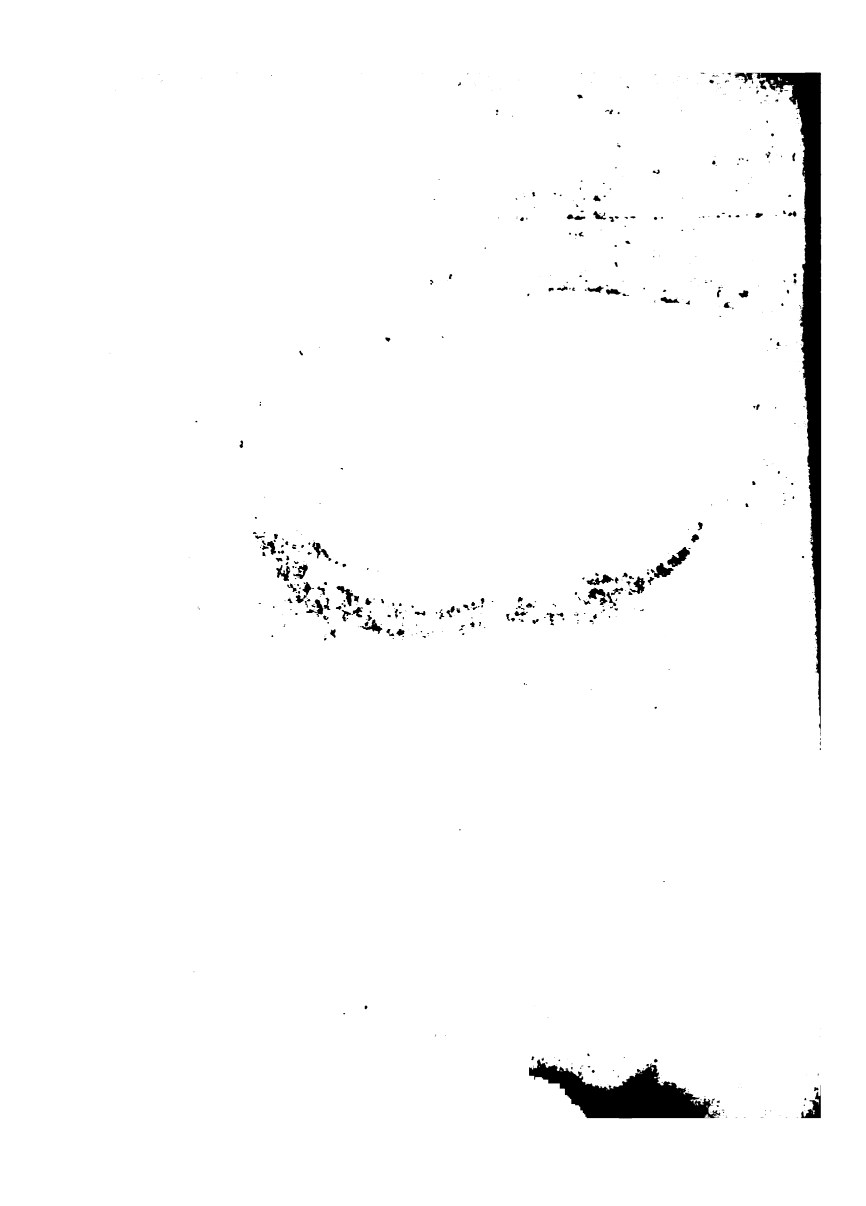
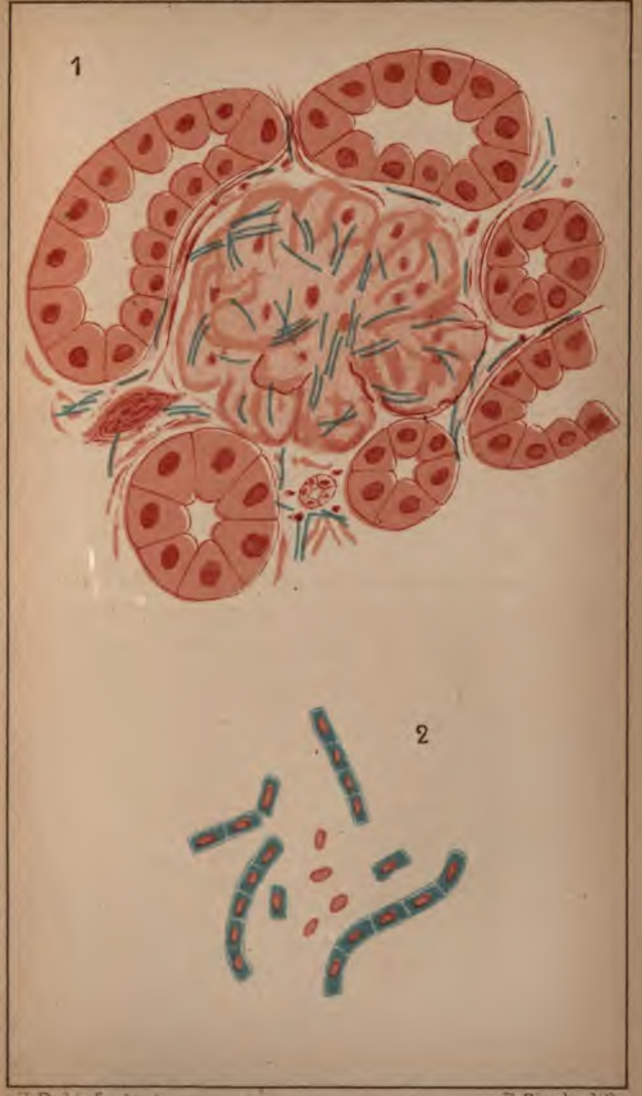


PLANCHE III

1. — **Filaments du charbon** en sporulation colorés par la méthode d'Ehrlich. Objectif n° 10 à immersion homogène (Nachet). Oculaire n° 4. Dessinés à la chambre claire de Nachet.

2. — **Coupe de rein de cobaye charbonneux.** — Objectif n° 9, à immersion à l'eau (Nachet). Oculaire 3. (Cette planche a été dessinée d'après une préparation faite par mon excellent collègue et ami M. Morel, interne des hôpitaux.)



H. Dubief, ad nat. E. Oberlin lith.

1. Rein de Cobaye charbonneux
2. Bacteries charbonneuses sporulées





PLANCHE IV

1. — **Cluture du charbon** par piqûre dans un tube de gélatine au sixième jour. La partie supérieure de la culture est déjà liquéfiée.

2. — **Culture du charbon** sur agar-agar incliné, au dixième jour.



ad nat.
E. Oberlin lith

1. Charbon sur gélatine
2. Charbon sur agar incliné

PLANCHE II

1. — **Micrococcus prodigiosus** sur pomme de terre.

2. — **Culture pure du bacille tuberculeux** au douzième jour à 37° sur sérum gélatinisé.



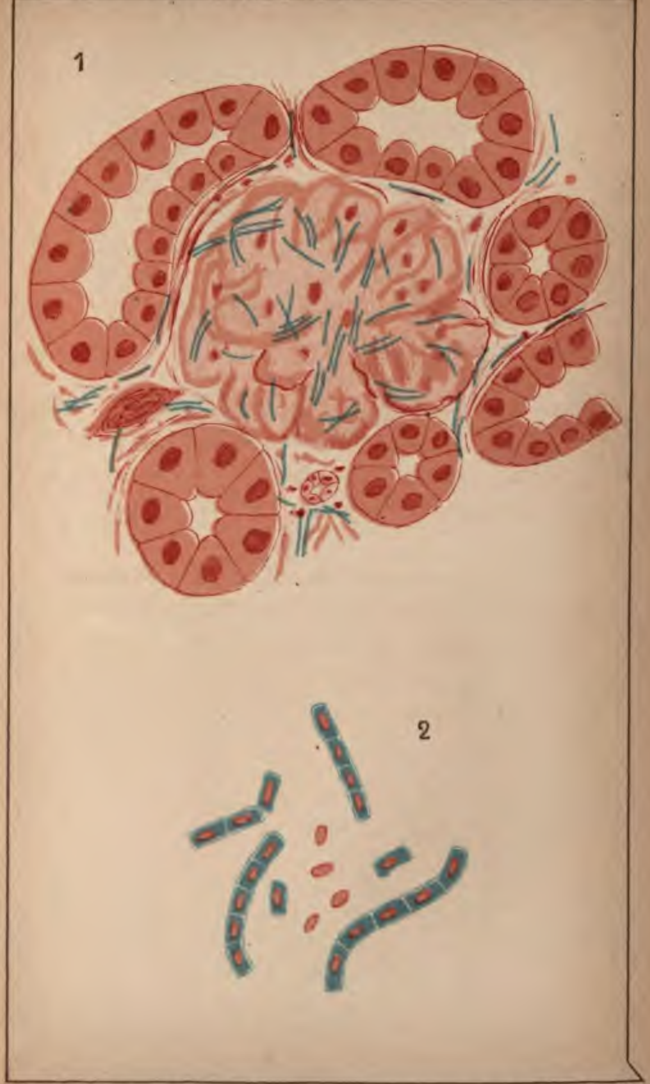
H. Dubief ad nat. Imp. Monrocq. Paris E. Oberlin lith.

1. *Micrococcus prodigiosus sur pomme de terre*
2. *Tuberculose sur Sérum gelatinisé*

PLANCHE III

1\. — **Filaments du charbon** en sporulation colorés par la méthode d'Ehrlich. Objectif nº 10 à immersion homogène (Nachet). Oculaire nº 4. Dessinés à la chambre claire de Nachet.

2\. — **Coupe de rein de cobaye charbonneux.** — Objectif nº 9, à immersion à l'eau (Nachet). Oculaire 3. (Cette planche a été dessinée d'après une préparation faite par mon excellent collègue et ami M. Morel, interne des hôpitaux.)



H. Dubief, ad nat. E. Oberlin lith.

1. Rein de Cobaye charbonneux
2. Bacteries charbonneuses sporulées

PLANCHE IV

1. — **Cluture du charbon** par piqûre dans un tube de gélatine au sixième jour. La partie supérieure de la culture est déjà liquéfiée.

2. — **Culture du charbon** sur agar-agar incliné, au dixième jour.



H. Dubief, ad nat. E. Oberlin lith.

1. Charbon sur gélatine
2. Charbon sur agar incliné

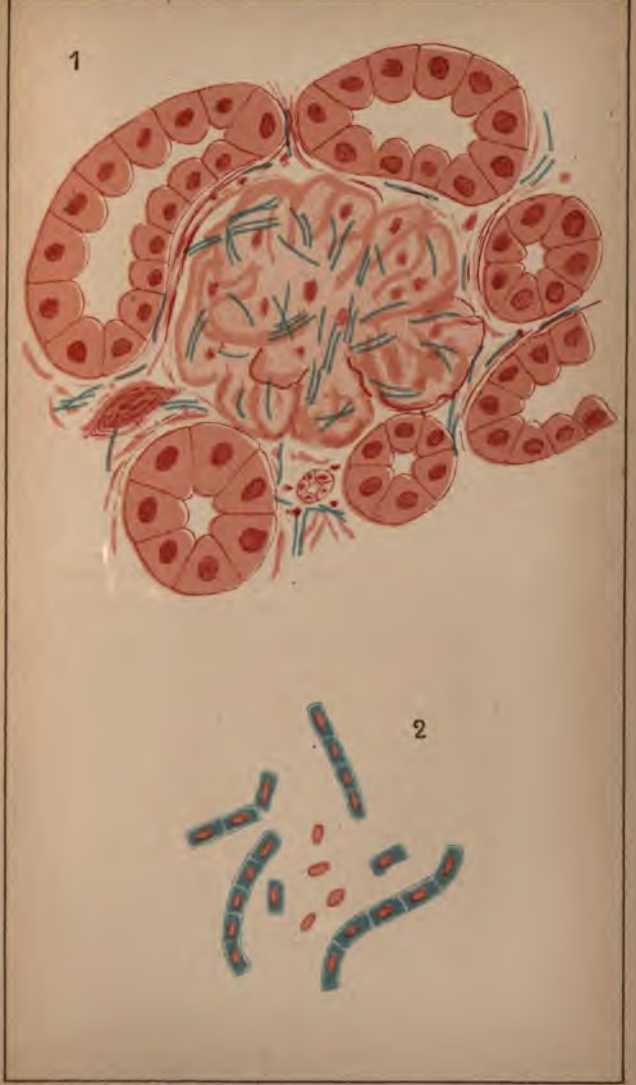
1. — **Pneumonie** au huiti[illegible]ur par piqûre dans un tube de gélatine.

2. — **Fièvre typhoïde** sur agar à la glycérine ; deuxième jour de culture à 35°.

PLANCHE III

1. — **Filaments du charbon** en sporulation colorés par la méthode d'Ehrlich. Objectif n° 10 à immersion homogène (Nachet). Oculaire n° 4. Dessinés à la chambre claire de Nachet.

2. — **Coupe de rein de cobaye charbonneux.** — Objectif n° 9, à immersion à l'eau (Nachet). Oculaire 3. (Cette planche a été dessinée d'après une préparation faite par mon excellent collègue et ami M. Morel, interne des hôpitaux.)



H. Dubief, ad nat. E. Oberlin lith.

1. Rein de Cobaye charbonneux
2. Bacteries charbonneuses sporulées

PL [illegible] VI

1. — **Culture du cholér[illegible]tique.** — Quatrième jour de culture sur gélatine.

2. — **Culture** au quatrième jour d'un spirille trouvé dans un cas de diarrhée cholériforme saisonnière.



H. Dubief, ad nat. E. Oberlin lith.

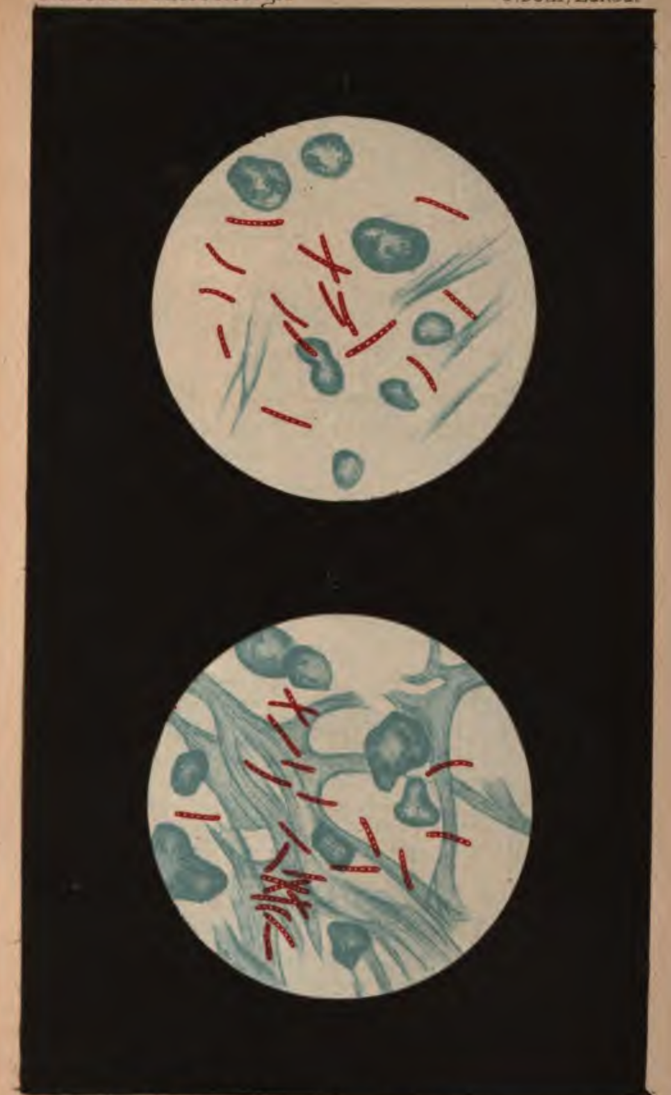
1. Rein de Cobaye charbonneux
2. Bacteries charbonneuses sporulées



PLANCHE VII

1.— **Bacille de la tuberculose dans un crachat.** — Méthode d'Ehrlich. Objectif $\frac{1}{18}$ de Zeiss. — Oculaire 3 de Leitz.

2. — **Bacille de la tuberculose** dans la paroi d'une caverne, même grossissement et même méthode que ci-dessus.



1. Bacilles de la tuberculose (Crachats).
2. *Bacilles* de la tuberculose (Paroi d'une caverne).

PLANCHE VIII

1. — **Bacille de [illegible] lèpre.** [illegible] Méthode d'Ehrlich. Objectif 10 à imme[illegible]gène de Nachet. Oculaire 3.

2. **Microbe de la blennorrhagie** dans du pus blennorrhagique. Objectif n° 10 à immersion homogène de Nachet. Oculaire 3.

Manuel de Microbiologie O. Doin. Editeur



H. Dubief ad nat. Imp. Monrocq Paris E. Oberlin lith.

1. Micrococcus prodigiosus sur pomme de terre
2. Tuberculose sur Sérum gélatinisé

Première partie (A-H) *livraisons* 1 à 12. — 1 beau vol. petit in-4 de 560 pages imprimé à deux colonnes, avec de nombreuses figures dans le texte .... 15 fr.

Les livraisons 13 à 21 (**H-S**) — commençant la 2ᵉ partie, sont parues. Prix de chaque livraison .... 1 fr. 25

L'ouvrage sera complet en 24 livraisons.

ANATOMIE, PHYSIOLOGIE, EMBRYOLOGIE, HISTOLOGIE

ATLAS D'ANATOMIE TOPOGRAPHIQUE DU CERVEAU ET DES LOCALISATIONS CÉRÉBRALES, par E. GAVOY, médecin principal à l'hôpital militaire de Versailles. 1 magnifique volume in-4 en carton contenant 18 planches chromolithographiques (8 couleurs), exécutées d'après nature, représentant de grandeur naturelle toutes les coupes du cerveau, avec 200 pages de texte.

En carton, 36 fr. — Relié sur onglets en maroquin rouge tête dorée, 42 fr.

AUFFRET (Ch.), professeur d'anatomie et de physiologie à l'école de médecine navale de Brest, ancien chef des travaux anatomiques. — **Manuel de dissection des régions et des nerfs**, 1 vol. in-18, cart. diamant, de 471 pages, avec 60 figures originales dans le texte exécutées, pour la plupart, d'après les préparations de l'auteur. 7 fr.

BALBIANI, professeur au Collège de France. — **Cours d'embryogénie comparée du Collège de France.** *De la génération des vertébrés.* Recueilli et publié par F. HENNEGUY, préparateur du cours. Revu par le professeur. 1 beau vol. grand in-8 avec 150 figures dans le texte et 6 planches chromolithographiques hors texte. 15 fr.

BRIEGER, professeur assistant à l'Université de Berlin, — **Microbes, Ptomaïnes et Maladies**, trad. par MM. ROUSSY et WINTER, avec une préface de M. le prof. HAYEM. 1 vol in-18 de 250 pages. 3 fr. 50

CADIAT (O.), professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. — **Cours de Physiologie professé à la Faculté.** 1882-1883. Petit in-4 de 250 pages. Avec des dessins autographiés ... 9 fr.

CARNOY (le chanoine J.-B.), docteur ès sciences naturelles, professeur à l'Université de Louvain. — **La Biologie cellulaire**, étude comparée de la cellule dans les deux règnes, 1ᵉʳ fascicule : 1 vol. de 300 pages avec 141 figures dans le texte........ 12 fr.

L'ouvrage sera publié en trois fascicules, payables séparément. — On peut dès maintenant souscrire à l'ouvrage complet pour 25 fr.

DEBIERRE, professeur chargé de cours à la Faculté de médecine de Lille — **Manuel d'Embryologie humaine et comparée.** 1 v. in-18, cartonné diamant, de 800 pages, avec 321 figures dans le texte et 8 planches en couleur hors texte.................. 8 fr.

DEBIERRE (Ch.). — **Les Maladies infectieuses, Microbes, Ptomaïnes et Leucomaïnes.** 1 vol. in-18 de 300 pages 3 fr. 50

DUBIEF (Dr), ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Manuel de Microbiologie** comprenant : les fermentations, la physiologie, la technique histologique, et la culture des bactéries et l'étude des principales maladies d'origine bactérienne. 1 vol. in-18, cartonné diamant, de 600 pages, avec 160 figures dans le texte et 8 planches en couleur hors texte.................................. 8 fr.

DUVAL (Mathias), membre de l'Académie de médecine, professeur à la Faculté de Paris, professeur à l'Ecole des Beaux-Arts. — **Leçons sur la Physiologie du Système nerveux (Sensibilité)**, recueillies par P. DASSY, revues par le professeur. In-8 de 130 pages, avec 30 figures dans le texte.......................... 3 fr.

FOSTER et LANGLEY. — **Cours élémentaire et pratique de physiologie générale**. Traduit sur la 5e édition anglaise par F. PRIEUR. 1 vol. in-18 jésus de 450 pages avec 115 figures. 5 fr.

JULIEN (Alexis), répétiteur d'anatomie. — **Aide-mémoire d'anatomie** (muscles, ligaments, vaisseaux, nerfs), avec figures, cartonnage toile.. 3 fr. 50

KLEIN (E.), professeur adjoint d'anatomie générale et de physiologie à l'Ecole médicale de Saint-Bartholomew's Hospital, Londres. — **Nouveaux éléments d'histologie**, traduits sur la 2e édition anglaise, et annotés par G. VARIOT, préparateur des travaux pratiques d'Histologie à la Faculté de médecine de Paris, chef de clinique à l'hôpital des Enfants-Malades, et précédés d'une préface de M. le professeur CH. ROBIN. 1 vol. in-18 jésus cartonné diamant de 540 pages avec 185 figures dans le texte............... 8 fr.

LEE ET HENNEGUY. — **Traité des méthodes techniques de l'anatomie microscopique**, avec une préface de M. le professeur RANVIER. 1 vol. in-8, de 500 pages .... 12 fr.

PATHOLOGIE INTERNE, HYGIÈNE ET MATIÈRE MÉDICALE

BARDET et EGASSE. — **Formulaire annuel des nouveaux remèdes, 1888**. 1 vol in-18, cartonné de 350 pages..... 4 fr.

BLONDEL (R.), préparateur à la Faculté de médecine de Paris. — **Manuel de matière médicale**, comprenant la description, l'origine, la composition chimique, l'action physiologique et l'emploi thérapeutique des substances animales ou végétales employées en médecine, précédé d'une préface de M. DUJARDIN-BEAUMETZ, membre de l'Académie de médecine. 1 gros vol. in-18, cartonné, percaline verte, tr. rouges, de 980 pages, avec 358 figures dans le texte.. 9 fr.

CAMPARDON (Ch.). — **Guide de thérapeutique aux eaux minérales et aux bains de mer**, avec une préface du docteur DUJARDIN-BEAUMETZ, membre de l'Académie de médecine, etc. 1 vol. in-18, cartonné diamant.............................. 5 fr.

CANDELLÉ (Dr Henri), ancien interne des hôpitaux de Paris, membre de la Société d'hydrologie médicale. — **Manuel pratique de médecine thermale.** 1 vol. in-18 jésus de 460 pages, cartonné diamant .... 6 fr.

DANION (L.) docteur. — **Traitement des affections articulaires par l'électricité**, leur pathogénie. 1 volume grand in-8 de 240 pages .... 5 fr.

DELMAS (Paul). — **Manuel d'hydrothérapie**. 1 vol. in-18, cartonné diamant de 600 pages, avec 39 figures dans le texte, 9 tableaux graphiques et 60 tracés sphygmographiques hors texte.... 6 fr.

DUCHESNE (L.), ancien interne des hôpitaux de Paris, membre de la Société de thérapeutique, de la Société de médecine pratique de Paris, etc., etc. — **Aide-mémoire et formulaire du médecin-praticien.** 1 vol. petit in-18, cartonné, de 380 pages.... 3 fr. 50

DUCHESNE (L.) et Ed. MICHEL. — **Traité élémentaire d'hygiène** à l'usage des lycées, collèges, écoles normales primaires, etc., 3e édition. 1 vol. in-18 de 225 pages, cartonné toile...... 3 fr.

DUJARDIN-BEAUMETZ, membre de l'Académie de médecine, médecin de l'hôpital Cochin, membre du Conseil d'hygiène et de salubrité de la Seine. — **Leçons de clinique thérapeutique**, contenant le traitement des maladies du cœur et de l'aorte, de l'estomac et de l'intestin, du foie et des reins, du poumon et de la plèvre, du larynx et du pharynx, des maladies du système nerveux, le traitement des fièvres et des maladies générales. 3 vol. grand in-8, de 800 pages chacun, avec figures dans le texte et planches chromolithographiques hors texte, 5e *édition* entièrement remaniée.. 48 fr.

DUJARDIN-BEAUMETZ. — *Conférences thérapeutiques de l'hôpital Cochin*. 1884-1885. **Les nouvelles médications.** 1 vol. in-8, de 216 pages avec figures, 3e édition, broché................ 6 fr.
cart. .... 7 fr.

DUJARDIN-BEAUMETZ. — *Conférences thérapeutiques de l'hôpital Cochin*. 1885-1886. **L'Hygiène alimentaire**, 1 vol. de 240 pages avec figures, et une planche en chromo hors texte, br. 6 fr.
cart... 7 fr.

DUJARDIN-BEAUMETZ. — *Conférences thérapeutiques de l'hôpital Cochin*, 1886-1887. **L'Hygiène thérapeutique**, 1 vol. de 250 pages avec planche en chromo hors texte, br........ 6 fr.
cartonné .... 7 fr.

DUJARDIN-BEAUMETZ et P. YVON. — **Formulaire pratique de thérapeutique et de pharmacologie.** 1 vol. in-18, cartonné, de 600 pages.. 4 fr.

PAULIER (A.-B.) et F. HÉTET, professeur de chimie légale à l'École navale de Brest, pharmacien en chef de la Marine. — **Traité élémentaire de médecine légale, de toxicologie et de chimie légale.** 2 vol. in-18, formant 1,350 pages, avec 150 figures dans le texte et 24 planches en couleur hors texte........ 18 fr.

PICHON (Dr G.), chef de clinique à la Faculté de médecine de Paris, médecin de l'Asile Ste-Anne. — **Les maladies de l'esprit.** Délire des persécutions, délire des grandeurs, délires alcooliques et toxiques; morphiomanie, éthérisme, absinthisme, chloralisme. Études cliniques et médico-légales. 1 vol. in-8 carré de 400 p. 7 fr.

RÉGIS (E.), ancien chef de clinique des maladies mentales à la Faculté de médecine de Paris. — **Manuel pratique de médecine mentale**, avec une préface de M. BALL, professeur de clinique des maladies mentales à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. in-18 jésus, cartonné diamant, de 640 pages.......... 7 fr. 50

RITTI (Ant.), médecin de la maison nationale de Charenton. — **Traité clinique de la Folie à double forme (Folie circulaire, délire à formes alternes).** Ouvrage couronné par l'Académie de médecine. 1 vol. in-8, de 400 pages............ 8 fr.

ROBSON-ROOSE, membre du Collège royal de médecine d'Édimbourg — **La Goutte et ses rapports avec les maladies du foie et des reins.** Ouvrage traduit d'après la 3e édition anglaise par le Dr Lucien DENIAU. 1 vol. in-18.................. 3 fr. 50

VULPIAN (A.), ancien doyen de la Faculté de médecine, membre de l'Institut et de l'Académie de médecine, médecin de l'hôpital de la Charité, etc. — **Maladies du système nerveux.** Leçons professées à la Faculté de médecine de Paris. 2 volumes grand in-8, formant 1300 pages.................................... 32 fr.
Le tome II se vend séparément........................... 16 fr.

VULPIAN. — **Leçons sur l'action physiologique des substances toxiques et médicamenteuses.** Un volume in-8 de 700 pages... 13 fr.

VULPIAN (A.). — **Clinique médicale de l'hôpital de la Charité.** Considérations cliniques et observations, par le Dr F. RAYMOND, médecin des hôpitaux. Revues par le professeur. — RHUMATISME, MALADIES CUTANÉES, SCROFULES, MALADIES DU CŒUR, DE L'AORTE ET DES ARTÈRES, DE L'APPAREIL DIGESTIF, DU FOIE, DE L'APPAREIL GÉNITO-URINAIRE, DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE, MALADIES GÉNÉRALES, EMPOISONNEMENTS CHRONIQUES, SYPHILIS, MALADIES DU SYSTÈME NERVEUX. 1 Fort vol. in-8, de 958 pages.......................... 14 fr

PATHOLOGIE DES PAYS CHAUDS

ARCHIVES DE MÉDECINE NAVALE. — Recueil fondé par le Cte DE CHASSELOUP-LAUBAT, ministre de la marine et des colonies, publié sous la surveillance de l'inspection générale du service de santé. Directeur de la rédaction : M. TREILLE, médecin en chef. Les *Archives de médecine navale* paraissent le 15 de chaque mois par cahier de 80 pages, avec figures dans le texte et planches hors texte.

France et Algérie....... 14 fr. | Étranger........ 17 fr.

Les abonnements partent du 1er janvier de chaque année et ne sont reçus que pour un an.

BÉRENGER-FÉRAUD (L.-J.-B.), directeur du service de santé de la Marine, membre correspondant de l'Académie de médecine. — **Traité théorique et clinique de la Dysenterie**, Diarrhée et Dysenterie aiguës et chroniques, 1 fort vol. in-8, de 800 pages .... 12 fr

BÉRENGER-FÉRAUD (L.-J.-B.). — **Traité clinique des maladies des Européens aux Antilles** (Martinique), 2 vol in-8, de 1193 pages .... 16 fr.

BÉRENGER-FÉRAUD (L.-J.-B.). — **Leçons cliniques sur les tænias de l'homme.** 1 vol. in-8 de 400 pages, avec 50 fig. 8 fr.

BERTRAND (L.-E.), professeur d'hygiène à l'école de Brest, et J. FONTAN, professeur d'anatomie à l'École de Toulon. — **De l'entéro-colite endémique des pays chauds**, diarrhée de Cochinchine, diarrhée chronique des pays chauds, etc. etc. 1 volume in-8 de 450 pages avec figures dans le texte et planches en couleurs hors texte.. 9 fr.

BUROT (P.), médecin de 1re classe de la Marine. — **De la Fièvre dite bilieuse inflammatoire à la Guyane.** Application des découvertes de M. PASTEUR à la pathologie des pays chauds, 1 vol. in-8, de 535 pages, avec 5 planches hors texte, dont une coloriée .... 10 fr.

CORRE (A.), médecin de 1re classe de la marine, professeur agrégé à l'école de Brest. — **Traité clinique des maladies des pays chauds.** 1 vol. grand in-8 de 870 pages, avec 50 figures dans le texte.. 15 fr.

CORRE (A). — **Traité des Fièvres bilieuses et typhiques des pays chauds**, 1 beau vol. in-8, de près de 600 pages, avec 35 tracés de température dans le texte .... 10 fr.

CORRE (A.). — **De l'étiologie et de la prophylaxie de la fièvre jaune**, in-8, avec une planche en couleur.... 3 fr. 50

CORRE (A.) et LEJANNE. — **Resumé de la matière médicale et toxicologique coloniale.** 1 vol. in-18, de 200 pages, avec figures dans le texte.............................. 3 fr. 50

JOUSSET (A.), ancien médecin de la marine. — **Traité de l'acclimatement et de l'acclimatation.** 1 beau vol. in-8, de 450 pages avec 16 planches hors texte .... 10 fr.

MAUREL (E.), médecin de 1re classe de la Marine. Contribution à la pathologie des pays chauds. **Traité des maladies paludéennes à la Guyane.** In-8 de 212 pages .... 6 fr.

MAUREL (E.). — **Recherches microscopiques sur l'étiologie du paludisme.** 1 vol. in-8 de 210 pages avec 202 figures dans le texte.. 6 fr.

MOURSOU (J.), médecin de 1re classe de la Marine. — **De la fièvre typhoïde dans la Marine et dans les Pays chauds**, 1 vol. in-8, de 310 pages.................................. 6 fr.

ORGEAS, médecin de la Marine. — **Pathologie des races humaines et le problème de la colonisation.** Etudes anthropologiques et économiques, 1 vol. in-8, de 420 pages... 9 fr.

TREILLE (G.), médecin principal de la marine, directeur des archives de médecine navale. — **De l'acclimatation des Européens dans les pays chauds.** 1 vol. in-18................. 2 fr.

PATHOLOGIE EXTERNE ET MÉDECINE OPÉRATOIRE

BRISSAY (A.), de Rio-de-Janeiro, docteur. — **Fragments de chirurgie et de Gynécologie opératoire contemporaines**, complétés par des notes recueillies au cours d'une mission scientifiques du Gouvernement français en Autriche et en Allemagne, précédés d'une introduction par J.-A. DOLÉRIS, accoucheur des hôpitaux de Paris, 1 vol. gr. in-8 de 210 pages avec 43 figures dans le texte .... 7 fr. 50

CHALOT, professeur à la Faculté de médecine de Montpellier. — **Nouveaux éléments de chirurgie opératoire**, 1 vol. in-18 cartonné diamant de 750 pages avec 498 figures dans le texte. 8 fr.

CHAVASSE, professeur agrégé au Val-de-Grâce. — **Nouveaux éléments de petite chirurgie.** *Pansements, Bandages et Appareils.* 1 vol. in-18 cartonné diamant de 900 pages avec 525 figures... 9 fr.

POULET (A.), médecin major, professeur agrégé au Val-de-Grâce, lauréat de l'Académie de médecine, membre correspondant de la Société de chirurgie, et H. BOUSQUET, médecin-major, professeur agrégé au Val-de-Grâce, lauréat de la Société de chirurgie. — **Traité de pathologie externe**. 3 vol. grand in-8, formant 3,114 pages avec 716 figures intercalées dans le texte.

Prix broché, 50 fr. » — Relié en maroquin, 57 fr. 50

POULET (A.).—**Traité des corps étrangers en chirurgie**. *Voies naturelles: tube digestif, voies respiratoires, organes génito-urinaires de l'homme et de la femme, conduit auditif, fosses nasales, canaux glandulaires*. 1 vol. in-8 de 800 pages, avec 200 gravures intercalées dans le texte.......................... 14 fr.

SCHREIBER (J.), ancien professeur libre à l'Université de Vienne, etc. — **Traité pratique de massage et de gymnastique médicale**. 1 vol. in-18 cartonné diamant de 360 pages, avec 117 figures dans le texte.................................... 7 fr.

VAILLARD (L.), professeur agrégé au Val-de-Grâce. — **Manuel pratique de vaccination animale**. Technique, procédés de conservation du vaccin. 1 vol. in-18 cartonné toile, avec figures dans le texte et 2 pl. en couleur hors texte............ 2 fr. 50

VOIES URINAIRES, MALADIES VÉNÉRIENNES & DE LA PEAU

Atlas des maladies des voies urinaires, par F. Guyon, professeur de pathologie externe à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine, chirurgien de l'hôpital Necker, et P. Bazy, chirurgien des hôpitaux de Paris, membre de la Société anatomique et de la Société clinique. 2 vol. in-4 contenant 700 pages de texte et 100 planches chromolithographiques dessinées *d'après nature* et représentant les différentes affections des voies urinaires, la plupart de *grandeur naturelle*.

L'ouvrage parait par livraison de 10 planches avec le texte correspondant. — Il sera complet en 10 livraisons.

Prix de chaque livraison.............. 12 fr. 50

Le Tome Ier (livraisons 1 à 5) est en vente. Un magnifique volume de 460 pages avec 50 planches et table des matières.

En carton, 62 fr. 50. Relié sur onglets en maroquin rouge, tête dorée 70 fr.

BERLIOZ (F.), professeur à l'école de médecine de Grenoble. — **Manuel pratique des maladies de la peau**. 1 vol. in-18, cartonné de 470 pages.................................... 6 fr.

DELFAU (Gérard), ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Manuel complet des maladies des voies urinaires et des organes génitaux.** 1 fort vol. in-18 de 1000 pages, avec 150 figures dans le texte.. 11 fr.

HILLAIRET (J.-B.), médecin honoraire de l'hôpital Saint-Louis, membre de l'Académie de médecine, du Conseil d'hygiène et de salubrité de la Seine, etc., et GAUCHER (E.), médecin des hôpitaux de Paris, ancien interne de l'hôpital Saint-Louis. — **Traité théorique et pratique des maladies de la peau.**

Tome Ier : *Anatomie et physiologie de la peau ; Pathologie générale ; Dermatoses inflammatoires communes*, 1 beau vol. gr. in-8 de 670 pages, avec figures dans le texte et 8 planches chromolithographiques hors texte exécutées d'après nature....... 17 fr.

L'ouvrage sera complet en deux volumes : le tome II, qui contiendra 12 planches hors texte, est actuellement sous presse.

LANGLEBERT, ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Traité pratique des maladies des organes sexuels.** 1 vol. in-18 jésus cartonné diamant de 600 pages avec figures dans le texte. 7 fr.

RIZAT (A.). — **Manuel pratique et complet des maladies vénériennes.** 1 vol. in-18, cartonné de 600 pages, avec 24 planches en couleurs, dessinées et coloriées d'après nature, représentant les différentes affections syphilitiques chez l'homme et chez la femme.. 11 fr.

YVON (P.), ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Manuel clinique de l'analyse des urines.** 3e *édition*, revue et augmentée. 1 vol. in-18 cartonné diamant de 400 pages, avec figures dans le texte et 8 planches hors texte......................... 7 fr.

ACCOUCHEMENTS, MALADIES DES FEMMES ET DES ENFANTS

BOURGEOIS (A.), médecin de la garde républicaine. — **Manuel d'hygiène et d'éducation de la première enfance.** 1 vol. in-18 de 180 pages.................................... 2 fr.

BUDIN (P.), professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. — **Obstétrique et gynécologie.** Recherches expérimentales et cliniques. 1 beau vol. gr. in-8 de 720 p. avec 101 fig. dans le texte et 31 planches lithographiques et en couleur hors texte. 15 fr.

BUDIN (P.). — **Mécanisme de l'accouchement normal et pathologique** et recherches sur l'insertion vicieuse du placenta, les déchirures du périnée, etc., par J. Mattews DUNCAN, président de la Société obstétricale d'Edimbourg. Traduit de l'anglais. In-8 de 520 pages, avec figures intercalées dans le texte.

Broché, 12 fr. — Cartonné, 13 fr.

CADET DE GASSICOURT, médecin de l'hôpital Sainte-Eugénie. — **Traité clinique des maladies de l'enfance** : Leçons professées à l'hôpital Sainte-Eugénie. 2e *édition*, revue et corrigée, 3 vol. grand in-8 formant 1800 pages avec 220 figures.... 36 fr.

CORRE (A.). — **Manuel d'accouchement et de pathologie puerpérale**. 1 vol. in-18 de 650 pages, avec 80 figures dans le texte et 4 planches en couleur hors texte.

Broché, 5 fr. — Cartonnage diamant, tranches rouges, 6 fr.

ELLIS (Edward), médecin en chef honoraire de l'hôpital Victoria pour les enfants malades, de l'hôpital de la Samaritaine pour les femmes et les enfants, ancien assistant de la chaire d'obstétrique au collège de l'Université de Londres. — **Manuel pratique des maladies de l'enfance**, suivi d'un formulaire complet de thérapeutique infantile. Traduit de la quatrième édition anglaise par le Dr WAQUET, et précédé d'une préface de M. le Dr CADET DE GASSICOURT, médecin de l'hôpital Sainte-Eugénie. 1 fort vol. in-18 de 600 pages .... 5 fr.

GODLESKI (A.). — **La Santé de l'enfant**. Guide pratique de la mère de famille. 1 joli vol. in-12 de 210 pages.......... 2 fr. 50

LA TORRE (Dr F.). — **Du développement du fœtus chez les femmes à bassin vicié**. Recherches cliniques au point de vue de l'accouchement prématuré artificiel. 1 vol. grand in-8, avec tableaux... 12 fr.

LAWSON TAIT, président de la Société de gynécologie de Londres, chirurgien de l'hôpital des femmes de Birmingham — **Traité des maladies des ovaires** suivi d'une étude sur quelques progrès récents de la chirurgie abdominale et pelvienne, (enlèvement des annexes de l'utérus. Cholécystotomie, hépatotomie, etc.) Traduit de l'anglais avec l'autorisation de l'auteur, par le Dr Adolphe OLIVIER, ancien interne des hôpitaux de la Maternité de Paris, membre de la Société obstétricale et gynécologique de Paris, etc. Précédé d'une préface de M. O. TERRILLON, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, chirurgien des hôpitaux. 1 beau vol. grand in-8 de 500 pages, avec 58 figures dans le texte............... 12 fr.

PLAYFAIR (W.-S.), professeur d'obstétrique et de gynécologie à King's College, président de la Société obstétricale de Londres. — **Traité théorique et pratique de l'Art des Accouchements**, traduit de l'anglais et annoté par le Dr Vermeil. 1 beau vol. grand in-8 de 900 pages, avec 208 figures dans le texte.. 15 fr.

RODRIGUES DOS SANTOS, directeur de la Maternité de Rio-Janeiro. — **Clinique obstétricale**, précédée d'une préface de M. A. Pinard, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. Tome I. Un vol. in-8 de 400 pages avec 57 figures................. 10 fr.

SCHULTZE (B.-S.), professeur de gynécologie à l'Université d'Iéna. — **Traité des déviations utérines**, traduit de l'allemand et annoté par le Dr F.-J. Herrgott, professeur de clinique obstétricale à la Faculté de médecine de Nancy. 1 beau vol. in-8 de 470 pages, avec 120 figures dans le texte........................ 10 fr.

SINÉTY (L. de). — **Traité pratique de gynécologie et des maladies des femmes**, 2e *édition*, revue corrigée et augmentée de près de 200 pages. 1 beau vol. in-8 de 1,000 pages, avec 181 figures dans le texte.................................. 15 fr.

TRIPIER (A.). — **Leçons cliniques sur les maladies des femmes. Thérapeutique générale et applications de l'électricité à ces maladies.** 1 vol. in-8 de 600 pages avec figures dans le texte.................................. 10 fr.

TOUSSAINT (E.), docteur, inspecteur du service de protection des enfants du premier âge, etc. etc. — **Hygiène de l'enfant en nourrice et au sevrage**, guide pratique de la femme qui nourrit. 1 vol. in-18 jésus de 150 pages.................. 1 fr. 50

MALADIES DES YEUX, DES OREILLES, DU LARYNX DU NEZ ET DES DENTS

ABADIE (Ch.), ancien interne des Hôpitaux, professeur libre d'Ophtalmologie. — **Traité des maladies des yeux**, 2e *édition*, revue et augmentée. 2 vol. in-8 de 500 pages chacun, avec 150 fig.. 20 fr.

ABADIE (Ch.). — **Leçons de clinique ophtalmologique**, recueillies par le Dr Parenteau, revues par l'auteur, contenant les découvertes récentes. 1 vol. in-8 de 280 pages............ 7 fr.

MORELL-MACKENZIE, médecin à l'hôpital des maladies de la gorge et de la poitrine, à Londres, etc. etc. **Traité pratique des maladies du larynx, du pharynx et de la trachée**, traduit de l'anglais et annoté par MM. les Drs E.-J. Moure et F. Bertier. 1 fort vol. in-8 de 800 pages, avec 150 figures ... 13 fr.

MORELL-MACKENZIE. — **Traité pratique des maladies du nez et de la cavité naso-pharyngienne**. Traduit de l'anglais et annoté par les Drs E.-J. Moure et J. Charazac (de Toulouse). 1 vol. grand in-8 de 450 pages, avec 82 fig. dans le texte. 10 fr.

MOURE (E.-J.). — **Manuel pratique des maladies des fosses nasales**. 1 vol cartonné diamant de 300 pages avec 50 figures et 4 planches hors texte.............................. 5 fr.

POLITZER (A.), professeur d'otologie à l'Université de Vienne. — **Traité des maladies de l'oreille**, traduit par le Dr Joly (de Lyon). 1 beau vol. grand in-8° de 800 pages. avec 258 fig. 20 fr.

POYET (G.), ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Manuel clinique de laryngoscopie et de laryngologie**. 1 vol. in-18 cartonné diamant de 400 pages, avec 50 figures dans le texte et 24 dessins chromolithographiques hors texte...... ... 7 fr. 50

Société française d'ophtalmologie (*Bulletins* et *Mémoires*), publiés par MM. Abadie, Armaignac, Chibret, Coppez, Gayet, Meyer, Panas, et Poncet.

3e année. — 1885. Un beau vol. grand in-8 de 380 pages, avec figures et 8 planches en chromo et en héliogravure hors texte. 10 fr.

4e année. — 1886. Un beau volume grand in-8 de 420 pages avec 5 planches en couleur.............................. 10 fr.

5e année. — 1887. Un vol. gr. in-8 de 325 pages.......... 8 fr.

SOUS (G.) de Bordeaux. — **Hygiène de la vue.** — 1 joli vol. in-18 cartonné diamant de 360 pages avec 67 figures intercalées dans le texte.. 6 fr.

SOUS (G.). — **Traité d'optique**, considérée dans ses rapports avec l'examen de l'œil. 2e *édition* 1 vol. in-8 de 400 pages, avec 90 figures dans le texte.................................. 10 fr.

TOMES, professeur à l'hôpital dentaire, membre de l'Institut royal de Londres. — **Traité d'anatomie dentaire humaine et comparée**, traduit de l'anglais et annoté par le Dr Cruet, ancien interne en chirurgie des hôpitaux de Paris. 1 vol. in-8 de 450 pages, avec 175 figures dans le texte.................. 10 fr.

WECKER (L. de). — **Thérapeutique oculaire** Leçons cliniques recueillies et rédigées par le Dr Masselon. Revues par le professeur. 1 vol. in-8 de 800 pages, avec figures dans le texte.... 13 fr.

WECKER (L. de). — **Chirurgie oculaire.** Leçons cliniques recueillies et rédigées par le Dr Masselon. Revues par le professeur. 1 vol. in-8 de 420 pages, avec 88 figures dans le texte......... 8 fr.

WECKER (L. de) et J. MASSELON. — **Echelle métrique pour mesurer l'acuité visuelle le sens chromatique et le sens lumineux.** 2e *édition* augmentée de planches en couleur 1 vol. in-8 et atlas séparé, contenant les planches murales. Le tout cartonné à l'anglaise...................................... 8 fr.

WECKER (L. de) et J. MASSELON.— **Ophtalmoscopie clinique.** 1 Beau vol. in-18 cartonné de 280 pages, avec 40 photographies hors texte représentant, d'après nature, les différentes modifications pathologiques de l'œil............................... 11 fr.

WECKER (L. de) et J. MASSELON. — **Oftalmoscopia clinica.** Traducedo por Real gefe de clinica, en el gabeneto oftalmico del professor de Wecker, 40 *fotographias fuero de texto.* 13 fr.

HISTOIRE DE LA MÉDECINE & OUVRAGES ADMINISTRATIFS

AUDET, médecin major à l'Ecole spéciale militaire de Saint-Cyr. — **Manuel pratique de Médecine militaire.** 1 joli vol. in-18, cartonné diamant avec planches hors texte............... 5 fr.

BARNIER, médecin de 1re classe de la marine. **Aide-Mémoire du Médecin de la Marine.** In-8 de.................. 2 fr. 50

GUARDIA (J.-M.). — **Histoire de la médecine** d'Hippocrate à Broussais et ses successeurs. 1 vol. in-18 de 600 pages cartonné diamant.. 7 fr.

PETIT (A.), médecin-major de l'armée. — **Guide du Médecin et du Pharmacien auxiliaires de l'armée,** programme de l'examen d'aptitude prescrit par le dernier règlement ministériel en date du 25 mai 1886, pour les docteurs en médecine, les pharmaciens, les officiers de santé et les étudiants à douze inscriptions (deuxième édition, revue et corrigée), 1 vol. in-18 de 200 pages avec figures........... .... 3 fr. 50

ROBERT (A.), médecin principal, professeur agrégé au Val-de-Grâce, membre correspondant de la Société de chirurgie. — **Traité des manœuvres d'ambulances et des connaissances militaires pratiques,** à l'usage des médecins de l'armée active, de la réserve et de l'armée territoriale. 1 beau vol. grand in-8 de 640 pages avec 253 figures dans le texte................. 13 fr.

RODET (Dr Paul), médecin inspecteur des écoles de Paris. — **Guide de l'étudiant en médecine et du médecin praticien**, contenant les règlements administratifs, concernant les aspirants au doctorat et à l'officiat, les étudiants étrangers et les étudiants des écoles secondaires, les concours des facultés, des écoles et des hôpitaux, les services d'aliénation mentale, le service militaire des étudiants, les écoles de médecine militaire et navale, les services médicaux dépendant des administrations publiques et privées. 1 vol. in-18 cartonné de 500 pages.................... 3 fr. 50

BOTANIQUE

Annuaire de l'Administration des forêts. Tableau complet au 1er février 1888 du personnel de l'Administration des forêts de France et d'Algérie, 1 vol. grand in-8 de 165 pages... 3 fr. 50

Atlas des champignons comestibles et vénéneux de la France et des pays circonvoisins, contenant 72 planches en couleur où sont représentées les figures de 229 types des principales espèces de champignons recherchés pour l'alimentation et des espèces similaires suspectes ou dangereuses avec lesquelles elles peuvent être confondues, dessinées d'après nature avec leurs organes reproducteurs amplifiés par Charles Richon, docteur en médecine, membre de la Société botanique de France. Accompagné d'une monographie de ces 229 espèces et d'une histoire générale des champignons comestibles et vénéneux, par Ernest Roze, lauréat de l'Institut, membre de la Société botanique de France, etc. Texte illustré de 62 photogravures des dessins primitifs des anciens auteurs, d'après des reproductions exécutées par Charles Rollet.

L'ouvrage est maintenant complet.

Prix des 2 vol. in-4 en carton..................... 90 fr.
Avec reliure spéciale............................ 100 fr.

BAILLON (H.), professeur d'histoire naturelle médicale à la Faculté de médecine. — **Le jardin botanique de la Faculté de médecine de Paris.** — Guide des élèves en médecine et des personnes qui étudient la botanique élémentaire et les familles naturelles des plantes. Contenant un résumé de leurs affinités et de leurs propriétés. 1 vol. in-18, cartonné diamant avec un plan du jardin collé sur toile.. 5 fr.

BAILLON (H.). — **Iconographie de la Flore Française**, paraissant par séries de 10 planches chromolithographiées (10 couleurs), d'après les aquarelles faites d'après nature sous les yeux de l'auteur. — Le texte explicatif, très complet, est imprimé au

verso même des planches. Chaque planche porte un numéro qui n'indique que l'ordre de publication. Un index méthodique et des clefs dichotomiques établissant les séries naturelles suivant lesquelles les espèces doivent être disposées, seront publiées ultérieurement. Le nom des plantes qui appartiennent à la Flore parisienne est accompagné d'un signe particulier (*). Les principales localités des environs de Paris sont indiquées à la fin du paragraphe relatif à l'habitat.

Prix de chaque série de 10 planches avec couverture. 1 fr. 25

L'ouvrage sera publié en 40 ou 50 séries. Les 22 premières séries sont en vente (mars 1888). Il paraît en moyenne une série par mois.

Les 100 premières planches de l'**Iconographie** ont été réunies en un volume, cartonnage toile, lettres dorées. M. Baillon, pour cette première centurie, a fait un résumé des plantes qu'elle contient ainsi qu'un titre et une courte introduction à l'ouvrage (en tout 24 pages de texte). — On peut se procurer à la librairie le texte en question ainsi que le cartonnage, moyennant **1 franc**. — Pour chaque centurie suivante, un texte analogue sera établi par l'auteur et sera vendu avec un cartonnage semblable, au même prix de un franc.

BAILLON (H.). — **Guide élémentaire d'herborisation et de botanique pratique**, petit volume avec figures dans le texte... 1 fr.

BLONDEL (R.), préparateur à la Faculté de médecine de Paris. — **Manuel de matière médicale**, comprenant la description, l'origine, la composition chimique, l'action physiologique et l'emploi thérapeutique des substances animales ou végétales employées en médecine, précédé d'une préface de M. Dujardin-Beaumetz, membre de l'Académie de médecine. 1 gros vol. in-18, cartonné, percaline verte, tr. rouges, de 980 pages, avec 358 figures dans le texte... 9 fr.

CRIÉ (Louis), professeur à la Faculté des sciences de Rennes, Dr ès sciences, pharmacien de 1re classe.— **Nouveaux éléments de botanique**, pour les candidats au baccalauréat ès sciences, et les élèves en médecine et en pharmacie, contenant l'organographie, la morphologie, la physiologie, la botanique rurale et des notions de géographie botanique et de botanique fossile. 1 gros vol. in-18, de 1160 pages avec 1332 figures dans le texte.......... 10 fr.

CRIÉ (L.). — **Cours de Botanique** (organographie, familles naturelles), pour la classe de quatrième, et à l'usage des Écoles d'agriculture et forestières et des Écoles normales primaires. 3e *édition*. 1 beau vol. in-18, cartonné, de 500 p., avec 863 fig. dans le texte. 4 f. 50

CRIÉ (L.). — **Anatomie et Physiologie végétales** (cours rédigé conformément aux nouveaux programmes), pour la classe de philosophie et les candidats au baccalauréat ès lettres. 2e *édition*. 1 vol. in-18, cart., de 250 p., avec 230 fig. dans le texte... 3 fr.

CRIÉ (L.). — **Premières notions de Botanique**, pour la classe de huitième et les écoles primaires, 1 vol. in-18, cartonné, de 150 pages avec 132 figures... 2 fr.

CRIÉ (L.).— **Essai sur la Flore primordiale** : ORGANISATION.— DÉVELOPPEMENT. — AFFINITÉS. — DISTRIBUTION GÉOLOGIQUE ET GÉOGRAPHIQUE. Grand in-8, avec nombreuses figures dans le texte. 3 fr.

FLUCKIGER, professeur à l'Université de Strasbourg, et HANBURY, membre des Sociétés royale et linnéenne de Londres. — **Histoire des drogues d'origine végétale**, traduite de l'anglais, augmentée de très nombreuses notes par le Dr J.-L. DE LANESSAN, professeur agrégé d'histoire naturelle à la Faculté de médecine de Paris. 2 vol. in-8 d'environ 700 pages chacun, avec 350 figures dessinées pour cette traduction... 25 fr.

FORQUIGNON (L.), professeur à la Faculté des sciences de Dijon. — **Les Champignons supérieurs.** PHYSIOLOGIE, — ORGANOGRAPHIE. — CLASSIFICATION. — Avec un vocabulaire des termes techniques. 1 vol. in-18, cartonné diamant, avec 100 figures.. 5 fr.

GÉRARD (R.), professeur agrégé à l'école supérieure de pharmacie de Paris. — **Traité pratique de micrographie** appliquée à l'étude de la Botanique, de la Zoologie, des Recherches cliniques et des Falsifications. 1 vol. gr. in-8°, cartonné en toile, de 550 pages de texte, avec 300 figures dans le texte et 40 planches sur cuivre hors texte, contenant plus de 1200 dessins, 1 vol. grand in-8, cartonné toile... 18 fr.

GRIGNON (E.), pharmacien de 1re classe, ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Le Cidre.** Propriétés hygiéniques et médicales, composition chimique et analyse du cidre. 1 vol. in-18, av. fig. 3 fr. 50

LANESSAN (J.-L. de), professeur agrégé d'histoire naturelle à la Faculté de médecine de Paris. — **Manuel d'histoire naturelle médicale** (botanique, zoologie). 2e *édition*, corrigée et augmentée. 2 forts volumes in-18 formant 2,200 pages avec 2,030 figures dans le texte, 20 fr. — Cartonné en toile... 22 fr.

LANESSAN (J.-L. de). — **Flore de Paris** (phanérogames et cryptogames), contenant la description de toutes les espèces utiles ou nuisibles, avec l'indication de leurs propriétés médicinales, industrielles et économiques, et des tableaux dichotomiques très détaillés, permettant d'arriver facilement à la détermination des familles, des tribus, des genres et des espèces de toutes les phanérogames et criptogames de la région parisienne, augmentée d'un tableau donnant les synonymes latins, les noms vulgaires, l'époque de floraison, l'habitat et les localités de toutes les espèces, d'un vocabulaire

des termes techniques et d'un memento des principales herborisations. 1 beau vol. in-18 jés. de 950 pag. avec 702 fig. dans le texte.

Prix broché, 8 fr. — Cartonné diamant, 9 fr.

LANESSAN (J.-L. de). — **Les plantes utiles des Colonies françaises**. Ouvrage imprimé par l'Imprimerie nationale. 1 beau vol. grand in-8 de 1000 pages.......................... 9 fr.

LANESSAN (J.-L. de). — **Histoire des drogues simples d'origine végétale**. 2 vol. in-8 (Voir *Fluckiger et Hanbury*). 25 fr.

LANESSAN (J.-L. de). — **Flore générale des Champignons**. (Voir *Wunsche*).

LORENTZ et PARADE. — **Cours élémentaire de Culture des Bois**. 6ᵉ *édition* publiée par MM. A. LORENTZ, directeur des forêts au ministère de l'Agriculture, et L. TASSY. 1 beau vol. in-8, de 750 pages, avec une planche hors texte..................... 9 fr.

MARCHAND (Léon), professeur à l'école supérieure de pharmacie de Paris. — **Botanique Cryptogamique pharmaceutico-médicale.** 2 vol. gr. in-8° de 500 pages avec de nombreuses figures dans le texte et des planches hors texte dessinées par FAGUET.

Le tome 1, qui comprend la 1ʳᵉ et la 2ᵉ partie est en vente. Il forme 1 vol. de 500 pages, avec 130 figures dans le texte et une planche en taille-douce, hors texte, prix.......... .... 12 fr.

PORTES (L.), chimiste expert de l'Entrepôt, pharmacien en chef de Lourcine et F. RUYSSEN. — **Traité de la Vigne et de ses produits**, précédé d'une préface de M. A. CHATIN, membre de l'Institut, directeur de l'École supérieure de pharmacie de Paris 2 forts volumes de plus de 700 pages chacun, avec de nombreuses figures dans le texte. Prix de l'ouvrage complet.......... 24 fr.

Le Tome Iᵉʳ et le 1ᵉʳ fascicule du tome II sont en vente, la fin de l'ouvrage, qui se paye d'avance, sera remise aux souscripteurs en 1888.

POULSEN (V.-A.) **Microchimie végétale**, guide pour les recherches phytohistologiques à l'usage des étudiants, traduit d'après le texte allemand par J. Paul LACHMANN, licencié ès sciences naturelles. 1 vol. in-18 .... 2 fr.

QUELET (Lucien). — **Enchiridion Fungorum in Europa Media** et præsertim in Gallia vigentium. 1 vol. in-18, cartonnage percaline verte, toile rouge................................ 10 fr.
Exemplaire interfolié de papier blanc quadrillé.......... 14 fr.

TASSY (L.), conservateur des forêts. — **Aménagement des forêts.** 1 vol. in-8° de 700 pages. 3ᵉ *édition* très augmentée, 1887. 8 fr.

TASSY (L.). — **Etat des forêts en France**, travaux à faire et mesures à prendre pour les rétablir dans les conditions normales. Une brochure de 120 pages.............................. 2 fr.

Ce travail est extrait de la 3e édition de « l'Aménagement des Forêts ».

WUNSCHE (Otto), professeur au Gymnasium de Zwickau. — **Flore générale des Champignons**. Organisation, propriétés et caractères des familles, des genres et des espèces, traduit de l'allemand et annoté par J.-L. de LANESSAN, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris. 1 vol. in-18 de plus de 550 pages. 8 fr.
Cartonné diamant.................................... 9 fr.

ZOOLOGIE ET ANTHROPOLOGIE

BÉRENGER-FÉRAUD (L.-J.-B.), médecin en chef de la marine. — **La Race provençale.** Caractères anthropologiques, mœurs coutumes, aptitudes, etc. et ses peuplades d'origine. 1 vol. in-8 de 400 pages.. 8 fr.

CORRE (A.), professeur agrégé à l'École de Brest. — **La Mère et l'Enfant dans les races humaines.** In-18 de 300 pages, avec figures dans le texte.............................. 3 fr. 50

DICTIONNAIRE DES SCIENCES ANTHROPOLOGIQUES. (Voir aux *Dictionnaires.*)

HOVELACQUE (Abel). — **Les débuts de l'humanité. L'homme primitif contemporain.** In-18 de 336 pages, avec 40 figures dans le texte.. 3 fr. 50

HUXLEY (Th.), secrétaire de la Société royale de Londres et MARTIN (H.-N.). — **Cours élémentaire et pratique de Biologie**, traduit de l'anglais par F. PRIEUR. 1 vol. in-18 de 400 pages. 4 fr.

LANESSAN (J.-L. de), professeur agrégé d'histoire naturelle à la Faculté de médecine de Paris.— **Traité de Zoologie. Protozoaires.** 1 beau vol. gr. in-8 de 350 pages, avec une table alphabétique, et 300 figures dans le texte.................................. 10 fr.

Le traité de zoologie paraît par volumes ou parties à 300 ou 400 pages, ornés de très nombreuses figures, contenant chacune l'histoire complète d'un ou plusieurs groupe d'animaux, et terminés par une table analytique.
1re partie. — *Les Protozoaires* (parue).
2e partie. — *Les Œufs et les Spermatozoïdes des Métazoaires. Les Cœlentérés* (sous presse).
3e, 4e et 5e partie. — *Les Vers et les Mollusques.*
6e et 7e partie. — *Les Arthropodes.*
8e 9e 10e partie. — *Les Proto-Vertébrés et les Vertébrés.*

LANESSAN (J.-L. de). — **Manuel de Zootomie**, guide pratique pour la dissection des animaux vertébrés et invertébrés à l'usage des étudiants en médecine, des écoles vétérinaires et des élèves qui

préparent la licence ès sciences naturelles, par AUGUST MOJSISOVICS ELDEN VON MOSJVAR, privat-docent de zoologie et d'anatomie comparée à l'Université de Gratz. Traduit de l'allemand et annoté par J.-L. DE LANESSAN. 1 vol. in-8 d'environ 400 pages avec 128 figures dans le texte.... .... 9 fr.

LANESSAN (J.-L. de). — **Le Transformisme. Évolution de la matière et des êtres vivants.** 1 fort vol. in-18 de 600 pages, avec figures dans le texte.............................. 6 fr.

PHILIPPON (Gustave), ex-professeur d'Histoire naturelle au Lycée Henri IV. — **Cours de zoologie, l'homme et les animaux,** rédigé suivant les nouveaux program., pour les lycées et collèges, et à l'usage des Écoles normales primaires. Un joli vol. in-18 cart. toile, de 500 pages, avec 300 figures dans le texte..... 4 fr. 50

RAY-LANKESTER (E.), professeur de zoologie et d'anatomie comparée à l' « University college » de Londres. — **De l'embryologie et de la classification des animaux.** 1 vol. in-18 de 107 pages, avec 37 figures hors texte.......................... 1 fr. 50

ROCHEBRUNE (A.-T. de), aide naturaliste au Museum d'histoire naturelle de Paris. — **Iconographie élémentaire du règne animal,** comprenant la figure et la description des types fondamentaux, représentant chacune des grandes classes zoologiques et de ceux des races domestiques.

Cette publication est en zoologie, ce que la *Flore française* du professeur Baillon est en botanique. Toutefois la complexité de la zoologie a conduit l'auteur à des modifications dont l'importance capitale ne peut échapper et se traduit dès l'apparition même des premières séries. Chaque planche porte un numéro indiquant la place qu'elle doit occuper dans l'ordre méthodique commençant aux vertébrés pour finir aux protozoaires.

Les races domestiques classées suivant cet ordre paraîtront au rang que chacune d'elles doit occuper dans la série animale.

Le texte explicatif imprimé au verso même de chaque planche, comprend la description, l'habitat, les mœurs et l'emploi de chaque animal.

Des généralités relatives aux notions de zoologie pure, d'anatomie, de classification, de distribution géographique, etc., seront données assurément pour être rangées en tête de chacune des classes établies.

Prix de chaque série de dix planches en huit et dix couleurs. 1 fr. 25

Les séries 1 à 6 sont en vente (novembre 1887). L'ouvrage sera publié en 60 séries au moins.

TELLIER (Louis). — **L'instinct sexuel chez l'homme et chez les animaux.** 1 vol. in-18 de 300 pages........ 3 fr. 50

VAYSSIÈRE (A.), maître de conférences à la Faculté des sciences de Marseille. — **Atlas d'anatomie comparée des invertébrés**, avec une préface de M. F. MARION, professeur à la Faculté des sciences, directeur de la Station zoologique et du Musée d'histoire naturelle de Marseille. Premier fascicule. Petit in-4 en carton, contenant 15 planches noires et coloriées, avec le texte correspondant.

L'atlas sera complet en 4 fascicules de 15 planches. Tous les fascicules seront publiés avant la fin de l'année 1888.

Prix de l'ouvrage complet, se payant d'avance..... 36 fr.

VÉRON (Eugène). — **Histoire naturelle des Religions.** — Animisme. — Religions mères. — Religions secondaires. — Christianisme. — 2 vol. in-18 formant 700 pages.................. 7 fr.

WAGNER (Moritz). — **De la Formation des espèces par la ségrégation**, traduit de l'allemand. 1 vol. in-18........ 1 fr. 50

MINÉRALOGIE ET PALÉONTOLOGIE

JAGNAUX (R.), membre de la Société Minéralogique de France et de la Société des Ingénieurs. — **Traité de Minéralogie appliquée** aux arts, à l'industrie, au commerce et à l'agriculture, comprenant les principes de cette science, la description des minéraux, des roches utiles et celle des procédés industriels et métallurgiques auxquels ils donnent naissance, à l'usage des candidats à la licence, des ingénieurs, des chimistes, des métallurgistes, des industriels, etc. etc. Un très fort volume gr. in-8 de 900 pages, avec 468 figures dans le texte.............................. 20 fr.

PORTES (L.), pharmacien en chef de l'hôpital de Lourcine. — **Manuel de minéralogie**. 1 vol. in-18 jésus, cartonné diamant, de 366 pages, avec 66 figures intercalées dans le texte........ 5 fr.

ZITTEL (Karl), professeur à l'Université de Munich, et SCHIMPER (Ch.), professeur à l'Université de Strasbourg. — **Traité de Paléontologie**. Traduit de l'allemand par Ch. BARROIS, maître de conférences à la Faculté des sciences de Lille 3 vol. grand in-8 de 700 à 800 pages chacun avec 1,800 figures dans le texte.

Le tome I — *Paléozoologie*. 1 vol. in-8 de 770 pages, avec 563 figures dans le texte, est en vente.................... 37 fr. 50

Le Tome II — *Paléozoologie* (fin). — Comprenant les mollusques et les articulés, 900 pages, avec 1.109 fig. dans le texte... 45 fr.

Le Tome III — *Paléobotanique*. (Sous presse).

CHIMIE, ÉLECTRICITÉ ET MAGNÉTISME

BARDET (G.). — **Traité élémentaire et pratique d'électricité médicale** avec une préface de M. le prof. C. M. GARIEL, 1 beau vol. in-8 de 640 pages, avec 250 figures dans le texte. 10 fr.

BARÉTY (A.), ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Le Magnétisme animal**, étudié sous le nom de force neurique rayonnante et circulante, dans ses propriétés physiques, physiologiques et thérapeutiques. Un vol. gr. in-8 de 640 pages avec 82 figures.. 14 fr.

BERNHEIM, professeur à la Faculté de médecine de Nancy. — **De la suggestion et de ses applications à la thérapeutique.** 1 vol. in-18 de 600 pages avec figures dans le texte. Broché, 6 fr., cartonné diamant.......................... 7 fr.

BOUDET DE PARIS, ancien interne des hôpitaux de Paris. — **Électricité médicale.** Études électrophysiologiques et cliniques. 1 vol. gr. in-8 de 800 pages, avec de nombreuses figures dans le texte. Cet ouvrage paraîtra en 3 fascicules. Les 1er et 2e fascicules sont en vente, ils forment 500 pages avec 140 fig......... 10 fr.

Le 3e fascicule paraîtra en 1888.

BOUDET DE PARIS. — **La Photographie sans appareils** pour la reproduction des dessins, gravures, photographies et objets plans quelconque. In-8 avec 10 planches hors texte en héliogravure.. 3 fr. 50

CHASTAING (P.), professeur agrégé à l'Ecole supérieure de pharmacie de Paris, et E. BARILLOT.— **Chimie organique.** Essai analytique sur la détermination des fonctions. Un vol. in-18 de 290 pages.. 4 fr.

DUTER (E.), agrégé de l'Université, docteur ès sciences physiques, professeur de physique au lycée Louis-le-Grand. — **Cours d'électricité** rédigé conformément aux nouveaux programmes. 1 vol. in-18, cartonné toile, de 280 pages, avec 200 figures dans le texte.. 3 fr. 50

EGASSE (E.). — **Manuel de Photographie** au gélatino-bromure d'argent. 1 vol. in-18, cartonné toile..................... 3 fr.

GARIEL (C.-M.), professeur à la Faculté de médecine de Paris, membre de l'Académie de médecine, ingénieur en chef des Ponts et chaussées. — **Traité pratique d'électricité,** comprenant les applications aux *Sciences* et à l'*Industrie* et notamment à la *Télégraphie*, à l'*Eclairage électrique*, à la *Galvanoplastie*, à la *Physiologie*, à la *Médecine*, à la *Météorologie*, etc., etc. Deux beaux volumes grand in-8 formant 1,000 pages avec 600 figures dans le texte. Ouvrage complet.......................... 24 fr.

FONTAN (J.), professeur à l'École de Toulon, et Ch. SEGARD, chef de clinique à la même école. — **Éléments de médecine suggestive.** *Hypnotisme et suggestion.* 1 vol. in-18 de 320 p. 4 fr.

GIBIER (P.). — **Le Spiritisme** (Fakirisme occidental). Un vol. in-18 de 400 pages avec figures.......................... 4 fr.

GRAHAM (professeur). — **La chimie de la panification**, traduit de l'anglais, 1 vol. in-18...... .... 2 fr.

HÉTET, pharmacien en chef de la marine, professeur de chimie à l'École de médecine navale de Brest. — **Manuel de chimie organique** avec ses applications à la médecine, à l'hygiène et à la toxicologie. 1 vol. in-18, de 880 pages, avec 50 figures dans le texte. Broché, 8 fr. — Cartonné.......................... 9 fr.

HUGUET (R.), ancien interne, lauréat des hôpitaux de Paris, professeur de chimie à l'École de médecine et de pharmacie de Clermont-Ferrand, pharmacien en chef des hospices. — **Traité de Pharmacie théorique et pratique.** 1 vol. grand in-8 cartonné de 1,230 pages, avec 430 figures dans le texte.............. 18 fr.

JAGNAUX (R.), professeur de chimie à l'Association philotechnique, membre de la Société Minéralogique de France, et de la Société des ingénieurs civils, etc. — **Traité de chimie générale analytique et appliquée**, 4 vol. gr. in-8 formant 2,200 pages avec 800 fig. dans le texte, et 2 planches en couleur, hors texte. 48 fr

JAGNAUX (R.). — **Traité pratique d'analyses chimiques et d'essais industriels**, méthodes nouvelles pour le dosage des substances minérales, minerais, métaux, alliages et produits d'art à l'usage des ingénieurs, des chimistes, des métallurgistes, etc., 1 vol. in-18 de 500 pages avec figures.................. 6 fr.

MONANGE, préparateur à la Faculté de médecine de Paris. — **Les Drogues chimiques**, d'après le droguier de la Faculté. 1 vol. in-18 de 280 pages.................................... 3 fr.

PATEIN, pharmacien en chef de Lariboisière, docteur ès sciences. — **Manuel de Physique medicale et pharmaceutique.** 1 fort vol. in-18 de 800 pages, avec 400 figures.
Prix : Broché...... 8 fr. | Cartonné diamant.. 9 fr.

OCHOROWICZ (J.), ancien professeur agrégé à l'Université de Lemberg. — **La Suggestion mentale.** 1 vol. in-18 jésus de 500 p. 5 fr.

SKEPTO. — **L'Hypnotisme et les Religions.** La fin du merveilleux, 2[e] *edition.* 1 vol. in-18 de 300 pages .... 2 fr. 50

YUNG (Émile), Privat-Docent à l'Université de Genève. — **Le Sommeil normal et le Sommeil pathologique**, magnétisme animal, hypnotisme, névrose hystérique. 1 vol. in-18...... 2 fr. 50

Tours Imp. Deslis Frères.



LANE MEDICAL LIBRARY
To avoid fine, this book should be returned on
or before the date last stamped below.

